

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

СУХИХ ИГОРЬ СЕРГЕЕВИЧ

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИДОВ  
САРАНЧОВЫХ СЕМЕЙСТВ ACRIDIDAE И  
RAMPHAGIDAE НА ОСНОВЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ И  
ЯДЕРНЫХ МАРКЕРОВ**

03.02.07 – Генетика

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
кандидат биологических наук,  
Блинов Александр Геннадьевич

Новосибирск 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ .....	2
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В РАБОТЕ СОКРАЩЕНИЙ .....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	6
Актуальность исследования .....	6
Научная новизна работы .....	7
Теоретическая и практическая значимость работы .....	8
Положения, выносимые на защиту .....	8
Вклад автора .....	8
Апробация работы .....	9
Публикации по теме диссертации .....	9
Структура и объем работы .....	10
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	11
Изучение филогенетических взаимоотношений .....	11
Выбор филогенетического маркера .....	13
Построение выравнивания .....	18
Выбор эволюционной модели .....	18
Филогенетический анализ .....	20
Оценка достоверности .....	23
Семейство Acrididae .....	24
Экология семейства Acrididae .....	24
История изучения семейства Acrididae .....	27
Семейство Pamphagidae .....	34
Экология семейства Pamphagidae .....	35
История изучения семейства Pamphagidae .....	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	39
Сбор природного материала .....	39
Выделение геномной ДНК .....	39
Полимеразная цепная реакция (ПЦР) .....	39
Разделение фрагментов ДНК в агарозном геле .....	40
Определение нуклеотидных последовательностей .....	40

Поиск последовательностей в генетических базах данных .....	41
Построение выравниваний нуклеотидных последовательностей .....	41
Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей.....	42
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	44
Поиск последовательностей в нуклеотидных базах данных и установление последовательностей экспериментальным путем .....	44
Филогенетический анализ видов семейства Acrididae.....	45
Полные митохондриальные последовательности.....	45
ITS2 последовательности .....	47
Конкатенированные COI, COII и Cytb последовательности .....	49
Конкатенированные COI и COII последовательности .....	52
Молекулярная филогения семейства Acrididae .....	54
Филогенетическая группа I.....	56
Филогенетическая группа II.....	57
Филогенетическая группа III .....	57
Филогенетический анализ видов семейства Pamphagidae.....	61
Конкатенированные COI и COII последовательности .....	61
ITS2 последовательности .....	63
Молекулярная филогения семейства Pamphagidae .....	65
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	67
ВЫВОДЫ .....	71
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	72
ПРИЛОЖЕНИЯ .....	85
Приложение 1 .....	85
Приложение 2.....	94
Приложение 3 .....	97
Приложение 4.....	98
Приложение 5.....	99
Приложение 6.....	100

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В РАБОТЕ СОКРАЩЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

мтДНК – митохондриальная ДНК

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ТАЕ - Трис-ацетатный-ЭДТА буфер

сек. – секунда

РНК – рибонуклеиновая кислота

рРНК – рибосомальная РНК

ПБКП – полные белок-кодирующие митохондриальные последовательности

AICc – corrected Akaike information criterion (Корректированный информационный критерий Акаике)

aLRT – Approximate likelihood ratio test (Тест приблизительного отношения правдоподобия)

Cytb – цитохром В

COI (coxI) – ген первой субъединицы митохондриальной цитохром оксидазы

COII (coxII) – ген второй субъединицы митохондриальной цитохром оксидазы

dNTP – дезоксинуклеотид трифосфаты

GTR – General time reversible

HKY – Hasegawa-Kishino-Yano model (модель Хасэгава-Кишино-Яно)

ITS2 – Internal Transcribed Spacer 2 (внутренний транскрибируемый спейсер 2)

NADH – Никотинамидадениндинуклеотид в восстановленной форме

aLRT – Approximate Likelihood Ratio Test (приближенный тест отношения правдоподобия)

LRT – Likelihood-Ratio Test (тест отношения правдоподобия)

NCBI – National Center for Biotechnology Information (Национальный центр биотехнологической информации)

NJ – Neighbor-joining (Метод объединения ближайших соседей)

ML – Maximum Likelihood (Метод максимального правдоподобия)

MP – Maximum Parsimony (Метод максимальной экономии)

OSF – Orthoptera Species File (Список видов прямокрылых)

TN – Tamura-Nei (Тamura-Ней)

UfBoot – Ultrafast bootstrap (сверхбыстрый бутстреп)

UPGMA – Unweighted Pair Group Method using arithmetic Averages (Метод невзвешенного попарного среднего)

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

Семейство Acrididae или Настоящие саранчовые является крупнейшим семейством отряда Orthoptera (Прямокрылые). Систематика, реконструкция филогенетических отношений и представления об эволюции настоящих саранчовых долгое время складывались преимущественно на основе сравнительного анализа ключевых морфологических структур рецентных и ископаемых видов. В результате были разработаны многие эволюционно-филогенетические модели развития этих насекомых на уровне таксонов высокого ранга. Однако на уровне семейств, подсемейств или триб у данных насекомых появляются проблемы, связанные с явлениями конвергенции и параллелизма. Acrididae включает в себя по 26 подсемейств (Cigliano et al., 2019), а также несколько родов, которые не были отнесены ни к одному из подсемейств, и филогенетические взаимоотношения между этими таксонами до сих пор вызывают споры.

Несмотря на наличие общепризнанной классификации (Cigliano et al., 2019), на данный момент не существует устойчивого мнения о филогенетических взаимоотношениях между подсемействами, некоторыми трибами и родами семейства Acrididae. Однако, использование молекулярно-биологических методов, основанных на анализе нуклеотидных последовательностей, позволяет объективно установить филогенетические взаимоотношения между таксонами любого ранга (Li et al., 2010; McMahon et al., 2011; Li et al., 2015). Накопленные к настоящему времени данные о последовательностях митохондриальной ДНК (мтДНК) различных видов саранчовых могут служить основой для широкого филогенетического анализа взаимоотношений видов данного семейства (Charco et al., 2011; Huang et al., 2013).

Таким образом, для более полного и детального исследования филогении семейства Настоящие саранчовые необходимо провести филогенетический анализ маркерных нуклеотидных последовательностей его видов. В данной работе использовались одни из наиболее распространенных маркеров, широко представленных в базе данных GenBank (Benson et al., 2018) для видов семейства

Acrididae: первая субъединица митохондриальной цитохром оксидазы (COI), вторая субъединица митохондриальной цитохром оксидазы (COII), цитохром В (Cytb) и внутреннего транскрибируемого спейсера 2 (ITS2).

Цели работы:

1. Изучение филогенетических взаимоотношений видов семейства Acrididae, а также его подсемейств и триб, на основе сравнения последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК.
2. Изучение филогенетических взаимоотношений видов семейства Pamphagidae, а также его подсемейств и триб, на основе сравнения последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК.

Задачи работы:

1. Биоинформатический поиск и анализ последовательностей митохондриальных (COI, COII, CytB) и ядерного (ITS2) маркеров, а также полноразмерных кодирующих последовательностей митохондриальных геномов представителей семейств Acrididae и Pamphagidae, представленных в базе данных GenBank.
2. Экспериментальное установление последовательностей митохондриальных (COI, COII, CytB) и ядерного (ITS2) маркеров для видов семейств Acrididae и Pamphagidae.
3. Сравнительный и филогенетический анализ полученных последовательностей.
4. Выявление основных групп для семейств Acrididae и Pamphagidae и несоответствий с существующей систематикой.

### **Научная новизна работы**

В работе был проведен комплексный филогенетический анализ семейств Acrididae и Pamphagidae. На основе данного анализа были сделаны гипотезы по коррекции существующей систематики видов данных семейств саранчовых. В ходе изучения семейства Acrididae была установлена полифилия для трех подсемейств, считающихся монофилетичными: Acridinae, Gomphocerinae, Oedipodinae. Были

предложены два новых подсемейства из видов полифелитичных групп. Для семейства Pamphagidae была установлена полифилетическая природа подсемейства Pamphaginae, а также предложены варианты распределения видов данного подсемейства по новым группам (трибы Nocarodeini, Tropidauchenini). Было показано, что триба Naplotropidini входит в состав подсемейства Thrinchinae, а не Pamphaginae.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

1. В результате проведенного филогенетического анализа были показаны несоответствия существующей систематики и собранных молекулярных данных.
2. Полученная в ходе исследования информация вносит вклад в систематику семейств Acrididae и Pamphagidae.
3. В ходе работы были выявлены сочетания маркеров, подходящих для филогенетического анализа семейств Acrididae и Pamphagidae.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Виды подсемейств Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae семейства Acrididae имеют полифилетичное происхождение и на уровне отдельных подсемейств образуют как минимум пять различных кластеров.
2. Трибы Nocarodeini и Tropidauchenini семейства Pamphagidae могут иметь статус отдельного подсемейства.
3. Виды подсемейства Pamphaginae имеют различное происхождение и, как минимум две трибы, Tropidauchenini и Naplotropidini, не входят в состав подсемейства.

### **Вклад автора**

Установление нуклеотидных последовательностей саранчовых *de novo* и проведение филогенетического анализа были осуществлены автором самостоятельно. Сбор и видовое определение саранчовых проводились проф. А. Г. Бугровым (ИСЭЖ СОРАН, НГУ).



### Апробация работы

Основные результаты, полученные в рамках настоящей работы, были представлены на десятой международной конференции BGRS\SB-2016 (Новосибирск, 2016 г.); девятой международной школе молодых ученых SBB-2017 (Ялта, 2017 г.); XV съезде Русского энтомологического сообщества (Новосибирск, 2016 г.).

### Публикации по теме диссертации

По материалам настоящей работы были опубликованы следующие статьи в рецензируемых журналах:

1. **Sukhikh I.**, Ustyantsev K., Bugrov A., Sergeev M., Fet V., Blinov A. The Evaluation of Genetic Relationships within Acridid Grasshoppers (Orthoptera, Caelifera, Acrididae) on the Subfamily Level Using Molecular Markers. // *Folia Biologica (Kraków)*. 2019. T. 67. No 3.
2. **Sukhikh I.**, Blinov A., Bugrov A. Molecular phylogenetic analysis of subfamilial placement of *Haplotropis* Saussure, 1888 (Orthoptera: Pamphagidae) based on mitochondrial and nuclear DNA markers // *Zootaxa*. 2019. T. 4551. № 5. С. 530–540.
3. Bugrov A., **Sukhikh I.**, Blinov A. Phylogenetic relationships of the Pamphagidae grasshoppers with the neo-XY/neo-XX of sex determination based on the analysis of DNA sequences in COI mitochondrial gene // *Euroasian Entomol. J.* 2015. T.12 № 5. С. 451–456.

Работа была представлена на конференциях:

1. **Sukhikh I.**, Ustyantsev K., Bugrov A., Sergeev M., Vavilova V., Blinov A. Revision of phylogenic relationships between several Acrididae subfamilies // *Systems Biology and Bioinformatics, The Eleventh International young Scientists School (SBB-2019); Abstracts, Novosibirsk, Russia. 24–28 June 2019. P.46*
2. **Sukhikh I.**, Ustyantsev K., Bugrov A., Sergeev M., Vavilova V., Blinov A. Establishing the molecular phylogeny of Acrididae grasshoppers (Orthoptera,

- Caelifera) // 13th International Congress of Orthopterology; Agadir, Morocco 24-28 march 2019. Abstract book, 2019. P. 202.
3. Vavilova V., **Sukhikh I.**, Blinov A, Bugrov A. Molecular phylogeny of the Pamphagidae family (Orthoptera, Caelifera) // 13th International Congress of Orthopterology; Agadir, Morocco 24-28 March 2019. Abstract book, 2019. P. 134.
  4. **Sukhikh I.**, Ustyantsev K., Vavilova V., Blinov A. Revised molecular phylogeny of Acrididae family // Biodiversity: Genomics and Evolution (BioGenEvo-2018) : Symposium (21–24 Aug. 2018, Novosibirsk, Russia); Abstracts, 2018, 45-45.
  5. Vavilova V., **Sukhikh I.**, Ustyantsev K., Blinov A. Acrididae family: establishing of phylogenetic relationships based on mitochondrial and nuclear DNA markers // Systems Biology and Bioinformatics: The Ninth International Young Scientists School SBB-2017 (Yalta, Republic of the Crimea, Russia 25–30 June, 2017); Abstracts – Novosibirsk : ICG SB RAS, 2017. p. 75
  6. **И.С. Сухих**, А.Г. Блинов, А.Г. Бугров. Молекулярная филогения саранчовых семейства Acrididae (Orthoptera: Acridoidea) // XV Съезд Русского энтомологического сообщества; Россия, Новосибирск, 31 июля – 7 августа 2017 г., Материалы съезда. С. 471.
  7. **I.S. Sukhikh**, A.G. Blinov, A.G. Bugrov. Molecular phylogenetic analysis of the grasshoppers of family Acrididae based on several mitochondrial and nuclear markers // The Tenth International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology. Abstracts – Novosibirsk: ICG SB RAS, 2016. p. 303.

### Структура и объем работы

Диссертация состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждений, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 100 страницах, содержит 16 рисунков, 2 таблицы и 6 приложений.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### Изучение филогенетических взаимоотношений

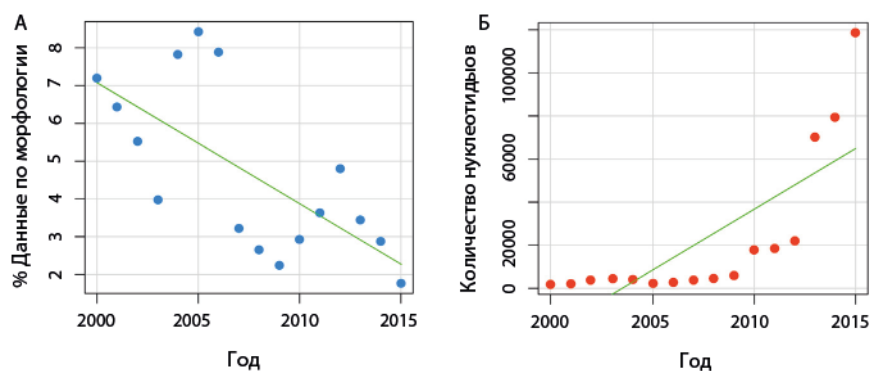
Филогенетика — это раздел науки, изучающий эволюционные взаимоотношения между группами организмов. Результат изучения филогенетических взаимоотношений чаще всего отображается в виде удобной схемы, которая называется филогенетическим деревом. Первой подобной схемой, отображающей эволюцию видов посредством естественного отбора, было древо, созданное Чарлзом Дарвином (Darwin, 1859). С тех пор многие ученые реконструируют эволюционную историю живых организмов путем построения филогенетических деревьев.

С развитием технологии секвенирования область применения филогенетических деревьев сильно возросла. Помимо отображения взаимоотношений между видами на древе жизни, филогения находит применение практически во всех отраслях биологии. Филогенетические деревья могут быть использованы для описания взаимоотношений между генами-паралогами (Ma et al., 2001), изучения истории популяций (Edwards, 2009), эволюционной и эпидемиологической динамики патогенов (Marra et al., 2003; Grenfell et al., 2004), взаимоотношения соматических клеток во время дифференцировки и развития рака (Salipante et al., 2006), а также эволюции языков (Gray, 2009). Более того, методы молекулярной филогении можно использовать в сравнительной геномике. Так филогенетические деревья используются в работах по классификации метагеномных последовательностей (Brady et al., 2011), идентификации генов (Kellis et al., 2003), регуляторных последовательностей и некодирующих ДНК (Pedersen et al., 2006); для разделения новых и древних геномов (Green et al., 2010), реконструкции древних геномов (Paten et al., 2008), а также для обнаружения и доказательства горизонтального переноса между организмами (Wallau et al., 2015).

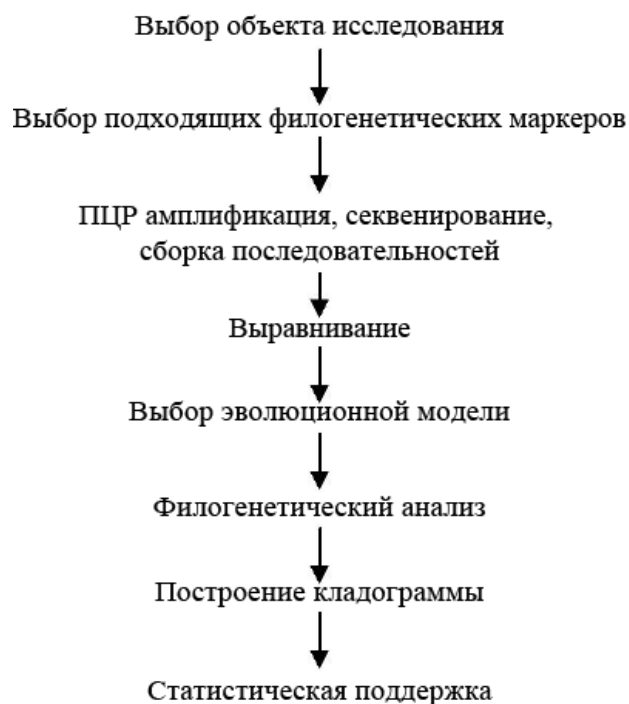
До начала изучения филогенетических взаимоотношений на основе молекулярных данных, ученые использовали морфологические признаки. С 1960 годов началось использование нуклеотидных и аминокислотных последовательностей для установления филогенетических взаимоотношений, что в значительной степени увеличило качество и статистическую поддержку кластеров

на деревьях, особенно учитывая огромный прогресс в вычислительных технологиях, так как для новых методов филогенетического анализа необходимы значительные вычислительные мощности.

В последние двадцать лет, количество филогенетических исследований, включающих морфологические данные, стремительно падает по сравнению с исследованиями, основанными исключительно на молекулярных данных (Рисунок 1). Данный факт говорит о том, что молекулярные данные в значительной степени улучшили филогенетический анализ, давая мощный инструмент для разрешения филогенетических взаимоотношений между таксонами любого ранга. Построение филогении на основе молекулярных данных обычно происходит в несколько этапов (Рисунок 2).



**Рисунок 1.** Рост молекулярных филогенетических исследований по сравнению с морфологическими. (А) Процент морфологических признаков, использованных в филогенетических работах с 2000 г. (Б) Размер используемых молекулярных данных (в количестве нуклеотидов) в филогении. Точки обозначают среднегодовые оценки, зеленые линии показывают регрессии наименьших квадратов (Lee et al., 2015).



**Рисунок 2.** Основные шаги в молекулярно-филогенетических исследованиях (Patwardhan et al., 2014).

### ***Выбор филогенетического маркера***

Любой филогенетический анализ начинается с выбора подходящего маркера. Как в случае использования морфологических признаков, так и молекулярных данных, для успешного филогенетического анализа необходимо подобрать набор признаков (характеристик), по которым будет строиться филогенетическое древо. Для филогении, построенной на основе молекулярных последовательностей, каждый нуклеотид (или аминокислота) может являться таким признаком.

В настоящее время опубликовано множество работ по филогении различных живых организмов. Филогенетические деревья строятся на основе самых разных генов или групп генов, в которых длина нуклеотидных последовательностей может варьировать от сотен до сотен тысяч пар оснований (Bugrov et al., 2006; Misof et al., 2014; Song et al., 2015; Song et al., 2018). В случае аминокислотных последовательностей длина варьирует от сотен до тысяч. Широкое распространения получили гены, представленные в большинстве живых существ как универсальные маркеры (Kress et al., 2008). Помимо универсальности для выбранной группы видов, хороший генетический маркер должен обладать следующими свойствами:

1) Однокопийность. Однокопийные гены зачастую выступают лучшими маркерами чем многокопийные, так как не имеют аналогов, которые могли бы эволюционировать параллельно (Cruickshank, 2002).

2) Выравнивание молекулярных последовательностей должно быть «простым». Т.е. все последовательности должны иметь примерно одну длину и схожую экзон-интронную структуру. Длина некоторых генов может различаться для членов одного таксона из-за вставок и делеций, что затрудняет выравнивание последовательностей таких генов. Однако, участки последовательностей, которые сложно выровнять, можно удалить, делая конечное выравнивание гораздо более простым. Также можно использовать информацию о вторичной структуре таких последовательностей чтобы избежать проблемы на этапе построения филогении (Kjer, 1995).

3) Молекулярная последовательность должна иметь оптимальную скорость нуклеотидных или аминокислотных замен, чтобы предоставить достаточное количество информативных сайтов. При сравнении последовательностей генов, эволюционирующих быстрее оптимума для данных видов, в одном сайте может происходить множество замен, сменяющих друг друга. Таким образом, по данным позициям эволюцию проследить невозможно. Более того, возрастает шанс возврата сайта с мутацией в исходное состояние, что вносит еще большую путаницу. Для белок кодирующих генов может возникнуть ситуация, при которой количество синонимичных замен очень велико, но практически нет несинонимичных замен, что делает аминокислотный анализ затруднительным, так как белковые последовательности таких генов не будут значительно отличаться (Patwardhan et al., 2014).

4) Возможность подобрать специфичные праймеры для эффективной амплификации, поскольку это может привести к загрязнению неспецифичными продуктами или последовательностями-аналогами симбионтов исследуемого организма (Patwardhan et al., 2014).

5) Соотношение азотистых оснований не должно значительно отличаться между последовательностями в выравнивании (Galtier et al., 1995).

#### *Митохондриальная ДНК*

Гены митохондриальной ДНК (мтДНК) обладают почти всеми вышеперечисленными свойствами, что делает их хорошими кандидатами для

использования в качестве филогенетических маркеров. Исключением является многокопийность, однако данный недостаток частично компенсируется простотой амплификации из-за большого числа копий митохондриальных генов. Митохондриальная ДНК является одним из самых первых маркеров, с помощью которых начали проводить исследования по реконструкции филогенетических взаимоотношений различных видов эукариот (Rubinoff et al., 2005). Многие из митохондриальных белок-кодирующих генов, в частности, ген, кодирующий субъединицу цитохром оксидазы С, активно используются в качестве молекулярных маркеров в филогенетических исследованиях (Zhang et al., 1997; Temu et al., 2005; Fenn et al., 2007; Kim et al., 2007). Помимо основных маркерных характеристик, можно выделить несколько дополнительных особенностей, благодаря которым митохондриальные гены являются наиболее удобным для изучения и установления эволюционных взаимоотношений видов насекомых.

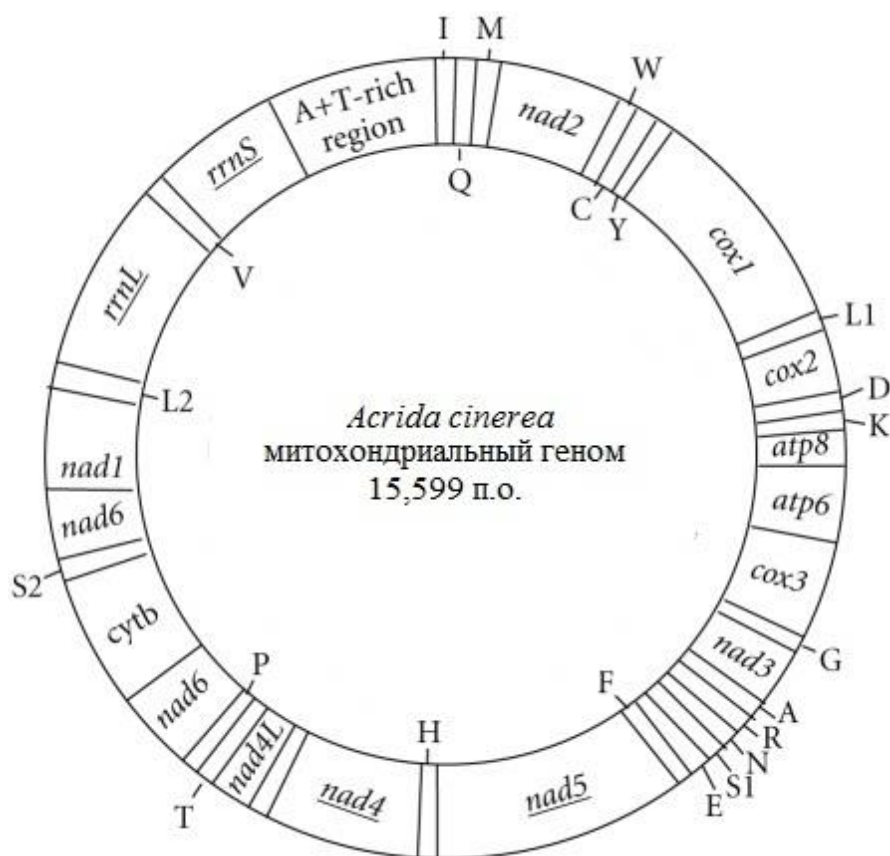
1) Неравномерная скорость накопления нуклеотидных замен в разных участках мтДНК. Отличительной особенностью мтДНК является неравномерность скорости накопления нуклеотидных замен в разных участках молекулы, что обеспечивает возможность использования митохондриальных маркеров для анализа филогении, как близкородственных видов, так и эволюционно удаленных групп организмов. Скорость замен различается не только при сравнении различных генов. В составе определенного гена мтДНК можно выделить различные участки, характеризующиеся как низкой, так и высокой скоростью накопления замен. Первые участки соответствуют реакционным центрам белковых молекул и антикодонным петлям транспортных РНК, вторые, как правило, соответствуют концевым участкам белковых молекул. Участки мтДНК с высокой скоростью накопления замен используются при популяционном анализе (Brown et al., 1979). Последовательности с низкой скоростью накопления замен используются при изучении взаимоотношений между группами организмов с высоким таксономическим уровнем.

2) Доступность последовательностей митохондриальной ДНК. Благодаря развитию технологий секвенирования ДНК в настоящее время для исследователей доступны полные последовательности мтДНК для большого числа видов. Кроме того, как было сказано выше, высокая копияность (в среднем от 100 до 1000 копий

мтДНК на клетку) и высокая стабильность двуцепочечных кольцевых молекул ДНК облегчает амплификацию генов мтДНК для видов, для которых не установлены полногеномные последовательности.

3) Митохондриальный геном насекомых наследуется по материнской линии и не подвергается рекомбинации. Данная особенность позволяет говорить о независимости большинства замен в последовательностях от естественного отбора.

4) Относительно простая структурная организация генов мтДНК. Более того, для большинства хордовых животных кольцевая мтДНК имеет схожий размер и структуру, примерно 16 т.п.о., кодирующих 2 рРНК, 22 тРНК и 13 белков (Rubinoff et al., 2005) (Рисунок 3).



**Рисунок 3.** Митохондриальный геном *Acrida cinerea* (Acrididae: Orthoptera). Белок кодирующие гены транскрибируются в направлении по часовой стрелке, кроме *nad1*, *nad4L*, *nad4* и *nad5* (выделены подчеркиванием). Гены рРНК закодированы в L цепи (выделены подчеркиванием). Гены тРНК имеют однобуквенное обозначение, соответствующее коду транспортируемой аминокислоты, символы L1, L2, S1, и S2 обозначают *trnL* (uur), *trnL* (cun), *trnS* (agn), и *trnS* (ucn), соответственно (Nardi et al., 2003).



Однако, последовательности мтДНК имеют ряд недостатков в качестве маркеров для филогенетического анализа:

1) Присутствие митохондриально-подобных последовательностей в ядерном геноме некоторых организмов. В ходе ПЦР можно коамплифицировать ядерные копии некоторых консервативных районов мтДНК, что затруднит филогенетический анализ. В частности, район D-петли у позвоночных (Thalmann et al., 2004) и насекомых отряда прямокрылых (Zhang et al., 1996).

2) Митохондриальный ток генов и возможная гетероплазмия. Наличие собственной мтДНК в каждой клетке и ее высокая копияность обуславливают проблему наследования разных копий мтДНК разными клетками. Таким образом, мтДНК может отличаться даже в рамках одного организма, и наследоваться согласно копиям в половых клетках, а не во всем организме (Wilton et al., 2018).

3) Подавляющее большинство исследований фокусируются на одном гене и, следовательно, очень чувствительны к ошибкам неправильного интерпретирования паттерна эволюции индивидуального гена.

Однако данных недостатков можно избежать, учитывая факторы, оказывающие влияние на эволюцию конкретного митохондриального маркера.

#### *Ядерная рибосомная ДНК*

Рибосомная ДНК считается одним из наилучших маркеров для изучения филогенетических взаимоотношений, из-за универсальности и наличия как консервативных, так и вариативных районов (Patwardhan et al., 2014). Рибосомы состоят из рРНК и белков, и во всех организмах состоят из двух субъединиц. Малая субъединица содержит один вид РНК (18S рРНК у эукариот). У большинства эукариот большая субъединица ДНК содержит три вида рРНК (5S, 5.8S и 25S/28S рРНК). Основные структуры большой и малой субъединиц рРНК содержат 10 и 18 вариативных регионов соответственно. Стоит отметить, что гены рРНК эволюционируют с меньшей скоростью, чем белок кодирующие гены, и, таким образом, являются особенно значительными для филогенетического анализа далеких видов (Patwardhan et al., 2014).

Согласно Рубиноффу Д. и Холланду Б.С. (Rubinoff et al., 2005), в идеале молекулярный филогенетический анализ должен включать в себя как ядерные последовательности ДНК, так и митохондриальные. Такой подход позволяет

нейтрализовать слабые стороны использования мтДНК, но получать все ее преимущества.

### ***Построение выравнивания***

Следующим этапом после выбора филогенетического маркера является построение множественного выравнивания нуклеотидных или аминокислотных последовательностей данного маркера для исследуемых видов. Множественное выравнивание – это, возможно, самый важный шаг в филогенетическом анализе, так как на данном этапе происходит соответствие нуклеотидных (или аминокислотных) позиций для всех последовательностей (Xiong, 2006). Качество выравнивания напрямую влияет на результат анализа и достоверность поддержки ветвей.

Существует множество алгоритмов для построения множественных выравниваний, например ClustalW (Thompson et al., 1994), Mafft (Katoh et al., 2013), Muscle (Edgar, 2004) и др. Помимо самих последовательностей, для выравнивания можно применить информацию о вторичной структуре ДНК или белков, например с помощью программы Praline (Simossis et al., 2005). Зачастую выравнивания неоднородны по качеству, так как некоторые участки эволюционируют быстрее, чем другие. В таких случаях рекомендуется использовать программы, которые могут корректировать ошибки, и удалять плохо выровненные участки автоматически, например Rascal и Gblocks (Castresana, 2000; Thompson et al., 2003).

### ***Выбор эволюционной модели***

Перед тем как непосредственно приступить к построению филогенетического дерева необходимо выбрать модель нуклеотидных замен. Модель нуклеотидных замен - это набор данных, представляющих информацию о вероятности одного нуклеотида быть замененным на другой, а также о частоте встречаемости нуклеотида. Выбор подходящей модели нуклеотидных замен может влиять на топологию древа, значения коэффициентов поддержки и оценку времени дивергенции видов (Lanfear et al., 2017). Необходимость выбора моделей нуклеотидных замен обусловлена тем, что наблюдаемое количество замен может не отражать реальный процесс эволюции исследуемых последовательностей. Например, процесс нуклеотидной замены с гуанина (G) на тимин (T) мог произойти в несколько шагов:  $G \rightarrow A \rightarrow C \rightarrow T$ . Также может произойти возврат

нуклеотида в результате обратной мутации:  $A \rightarrow T \rightarrow A$ . Более того, одинаковый нуклеотид в одной позиции в выравнивании может быть следствием параллельных мутаций. Таким образом, многочисленные замены и конвергентная эволюция в одном сайте вносит дополнительные трудности в оценку достоверности эволюционных взаимоотношений между последовательностями. Этот эффект гомоплазии на молекулярном уровне необходимо учитывать для построения филогенетического дерева, отражающего реальный эволюционный процесс. Использование моделей нуклеотидных замен помогает корректировать филогенетическое древо с учетом гомоплазии. С развитием филогенетики различными учеными предлагались все более усложняющиеся модели, включающие большее количество параметров.

Модель Джукса-Кантора (Jukes-Cantor, JC69): Самая первая и простая модель, которая предполагает одинаковую вероятность нуклеотидов заменяться друг на друга и одинаковую вероятность встречаемости нуклеотидов для каждой позиции. Для современного анализа используется крайне редко и способна отражать эволюцию только очень близкородственных видов (Xia, 2018).

Модель Кимуры (Kimura, K80): Предполагает различную вероятность транзиций и трансверсий, но одинаковую встречаемость нуклеотидов. Данная модель отражает эволюционный процесс, более приближенный к реальности, чем модель Джукса-Кантора (Kimura, 1980).

Модель GTR (General time-reversible): в данной модели предполагаются различные частоты встречаемости нуклеотидов, которые рассчитываются по четырем параметрам. Также учитываются различные частоты замен между нуклеотидами, которые описываются шестью параметрами (Xia, 2018).

Данные модели являются основными ступенями развития моделей нуклеотидных замен. Помимо них существует множество промежуточных моделей, такие как модели F81 (Felsenstein), НКУ (Hasegawa-Kishino-Yano), TN (Tamura-Nei) и др. (Xia, 2018).

Скорость накопления мутаций различается для различных нуклеотидных позиций (сайтов). Замены в третьей позиции кодонов происходят чаще, чем в первой и второй, так как являются синонимичными, и не приводят к изменению аминокислоты. Нуклеотидные позиции, находящиеся под постоянным положительным отбором (например, антигенные детерминанты) изменяются чаще,

чем позиции связывания белков, находящиеся под отрицательным отбором. Чтобы учесть различия в скорости замен можно оценить вариации частот между позициями. Для этого используется параметер гамма-распределения  $\Gamma$ . Частота замен в различных позициях варьирует согласно гамма-распределению (Tamura et al., 1993). Гамма-распределение может становиться нормальным при большом параметре  $\alpha$  (gamma shape parameter) и экспоненциальным при  $\alpha < 1$ . Таким образом, следует использовать меньшие значения параметра  $\alpha$  при большом варьировании частот замен в последовательностях. Помимо параметра  $\Gamma$ , можно использовать параметр  $I$ , описывающий долю инвариантных позиций, т.е. консервативных сайтов, находящихся под действием отрицательного отбора.

Разделение последовательностей на части (Partitioning) с различными скоростями замен может сильно улучшить филогенетический анализ (Lanfear et al., 2012). Такое разделение позволяет присваивать отдельным участкам последовательностей собственные модели замен, таким образом учитывая различия в скорости эволюции, частоте нуклеотидов и особенностях частот замен. Это особенно полезно при конкатенации последовательностей, когда два и более различных генов можно использовать в одном анализе с различными моделями замен. Разделение на части зачастую определяется вручную, однако все чаще используются автоматические алгоритмы для нахождения оптимальной схемы разделения (Lanfear et al., 2012). Во многих работах по филогении, разделение последовательностей приводило к улучшению поддержки филогенетического анализа, оценки топологии и длины ветвей, а также времени дивергенции (Ho et al., 2010; Rota et al., 2012; Leavitt et al., 2013).

### ***Филогенетический анализ***

Методы филогенетического анализа последовательностей подразделяются на две группы (Рисунок 4):

- 1) distance-based methods - методы, основанные на оценке расстояний или матричные методы;
- 2) character-based methods - символично-ориентированные методы.



**Рисунок 4.** Схема основных методов построения филогенетических деревьев (Patwardhan et al., 2014).

Матричные методы основаны на вычислении попарных генетических расстояний между последовательностями. В данном случае, генетическое расстояние - это мера генетического различия, которая определяется по количеству несоответствий в позициях двух последовательностей, между которыми устанавливается генетическая дистанция. На филогенетическом древе длина ветвей будет отображать меру генетических дистанций. Наиболее часто используемыми матричными методами построения деревьев являются алгоритм попарной группировки (UPGMA) (Michener et al., 1957) и метод соединения ближайших соседей (NJ) (Saitou et al., 1987). Алгоритм NJ является модификацией алгоритма UPGMA и основан на принципе поиска пар ближайших последовательностей таким образом, чтобы суммарная длина ветвей филогенетического древа была минимальной на каждом этапе кластеризации. Преимуществами данных методов является: высокая скорость обработки данных (особенно метод ближайших соседей), способность относительно быстро обрабатывать большие массивы данных, а также достоверные результаты даже для тестового анализа. Недостатки включают в себя: неэффективное использование статистической информации, и сложности проецирования информации о локальных особенностях с одного расстояния между вершинами на другое (Yang et al., 2012).

Символьно-ориентированные методы используют генетические расстояния с учетом распределения символов (нуклеотидов или аминокислот) в последовательностях для получения оптимальной топологии древа. Если для матричных методов при построении древа используются только значения генетических дистанций, то символьные методы используют сами выравненные

последовательности в ходе построения дерева. Другими словами, в символьных методах каждый нуклеотид выступает в качестве признака, а в матричных - генетическая дистанция. Метод максимальной экономии (MP) (Cavalli-Sforza et al., 1967) и метод максимального правдоподобия (ML) (Felsenstein, 1981) являются наиболее активно используемыми символьными методами. В последнее время, так же, большое распространение получил метод Байеса (Huelsenbeck et al., 2001).

Метод MP наиболее популярный алгоритм восстановления наследственных связей. Алгоритм конструирует множество возможных филогенетических деревьев, и затем осуществляет их оценку на основе числа эволюционных изменений (мутаций). Наиболее релевантным признается дерево, которое предполагает наименьшее число мутаций для описания эволюционных взаимоотношений между последовательностями (Patwardhan et al., 2014).

Метод максимального правдоподобия конструирует филогенетическое дерево, основываясь на эволюционной модели (модели замен), которая обеспечивает максимальное значение функции правдоподобия и с наибольшей вероятностью описывает данные (Patwardhan et al., 2014).

Метод Байеса основан на сборе статистических данных и использует распределение вероятностей для описания всех неизвестных, включая параметры моделей. В филогенетике, топология стартового дерева и модель замен играют роль статистической модели для описания данных. В результате анализа, с помощью методов Монте Карло для Марковских цепей, происходят случайные изменения деревьев, начиная со стартового дерева. Таким образом, каждое новое дерево имеет топологию отличную от предыдущего, и основанную только на данных предыдущего дерева. Разные топологии деревьев играют роль разных моделей для анализа, а длины ветвей или время дивергенции являются параметрами для моделей (Nascimento et al., 2018).

Методы правдоподобия и Байеса получают лучшие результаты, чем методы, основанные на расчете расстояний и экономии, и с увеличением вычислительных мощностей они получили широкое распространение. Примерами программ, осуществляющих филогенетический анализ последовательностей, являются: MRBAYES (Huelsenbeck et al., 2001), PhyML (Guindon et al., 2010) и IQ-Tree (Trifinopoulos et al., 2016).

### ***Оценка достоверности***

Для оценки достоверности топологии филогенетического дерева используется один из статистических тестов, например бутстреп-тест или aLRT. Метод бутстрепа анализа заключается в формировании достаточно большого количества (1000—10000) псевдовыборок, из уже имеющейся выборки. Данные псевдовыборки представляют собой выравнивания со случайными комбинациями исходного набора позиций (столбцов нуклеотидов или аминокислот в выравнивании), которые совпадают по размеру с исходным. Далее происходит построение множества деревьев на основе полученных псевдовыборок, тем же методом что и для основного выравнивания (Felsenstein, 1985). Значения бутстрепа для определенных ветвей отображают процентное количество деревьев, в которых данная ветвь присутствует. Лемуан Ф. предложил улучшенную версию бутстрепа, в ней присутствие или отсутствие ветвей измеряется на основе постепенного вычисления расстояния (“transfer” distance) с каждой новой псевдовыборкой (Lemoine et al., 2018). В оригинальной версии измерение производится бинарно, т. е. на основе наличия\отсутствия ветви в дереве каждой новой псевдовыборки. Статистическая поддержка улучшенной версии выше, так как не включает ложно позитивные ветви (Lemoine et al., 2018).

LRT тест, это статистический тест, основанный на сравнении различных моделей с разными ограничениями, оцененных на основе выборочных данных. Идея теста основана на сравнении функций правдоподобия для модели без ограничений и модели с ограничениями. Данный тест с успехом можно использовать для работы с молекулярными данными. aLRT является усовершенствованным методом LRT, оптимизированным для быстрой работы с молекулярными данными и построения филогенетических деревьев (Anisimova et al., 2006).

Несмотря на наличие множества методов построения филогенетических деревьев и оценки их достоверности, основным критерием качества дерева остается выравнивание молекулярных последовательностей (Patwardhan et al., 2014). Размер последовательности, количество замен и качество самого выравнивания играют главенствующую роль в разрешении филогенетических взаимоотношений между видами.

## Семейство Acrididae

Семейство Acrididae (MacLeay, 1821) или Настоящие саранчовые – самое большое семейство в надсемействе Acridoidea подотряда Caelifera (Короткоусые саранчовые) отряда Orthoptera (Прямокрылые) класса Insecta (Насекомые). Данное семейство включает более 6700 видов, и имеет самое большое разнообразие таксонов в подотряде Caelifera (Cigliano et al., 2019). Основной отличительной характеристикой представителей семейства является наличие коротких усиков, а также наличие короткого яйчеклада, состоящего из четырех створок. В работе Сонга Х. была выдвинута гипотеза о возникновении данного семейства в раннем Кайнозое, и его распространении в среднем и позднем Кайнозое (Song et al., 2015). К тому времени основные континенты уже разделились, что говорит о важной роли рассредоточения видов в формировании современной биогеографии акридид.

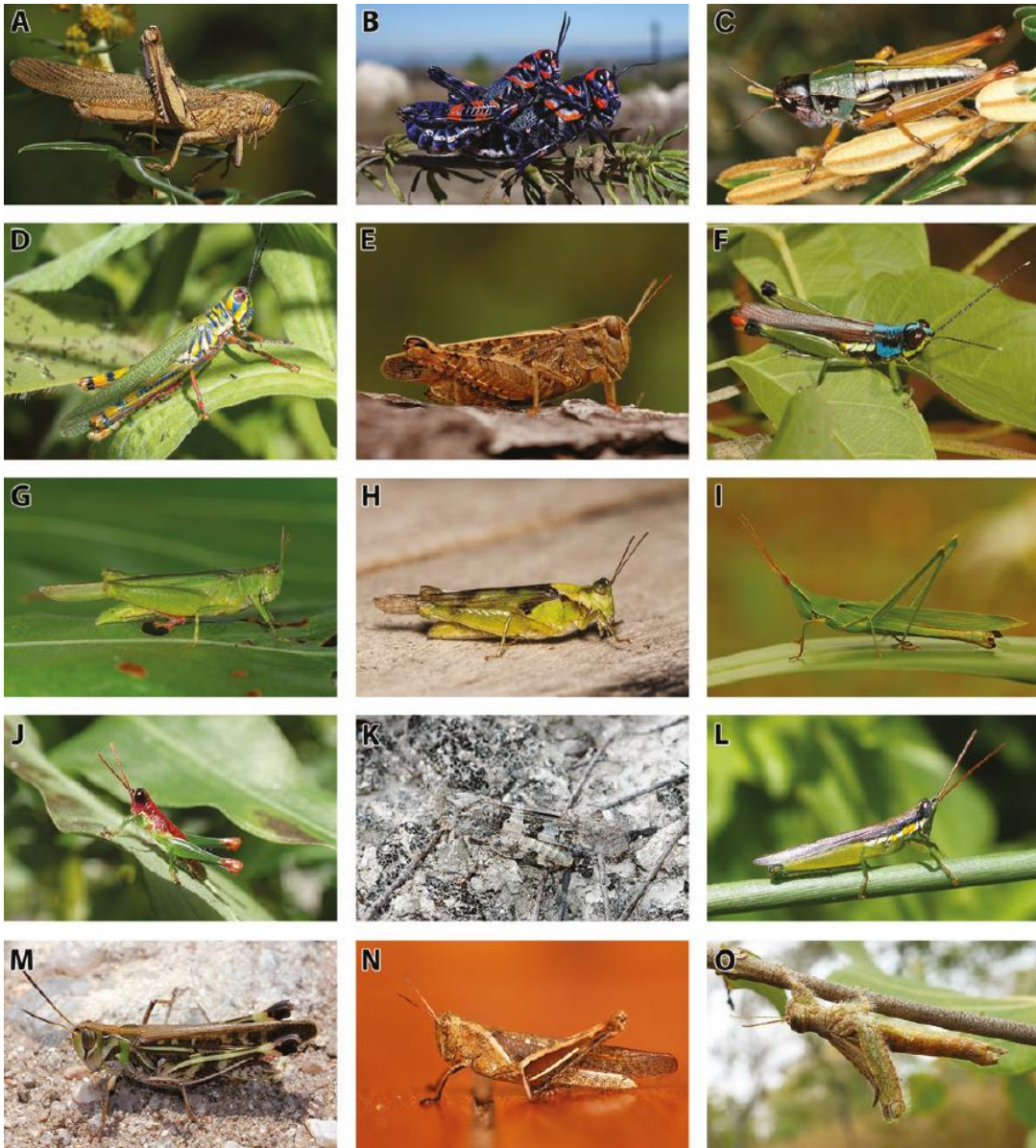
### *Экология семейства Acrididae*

Саранчовые семейства Acrididae являются растительноядными насекомыми, широко распространёнными в луговых экосистемах по всему миру (Uvarov, 1966; Mitchell et al., 1974; Guo et al., 2006; Cigliano et al., 2019). Более половины биомассы членистоногих, обитающих в надземном слое травы, в таких экосистемах приходится на саранчовых (Gillon, 1983). Данные насекомые играют значительную роль в круговороте питательных веществ (Mitchell et al., 1974; Belovsky et al., 1993), являясь важным источником питания как для беспозвоночных (Joern et al., 2006), так и для позвоночных (Gandar, 1982). Более того, саранчовые чувствительны к изменениям окружающей среды и достаточно мобильны для того, чтобы служить индикаторами экологической обстановки (Gebeyehu et al., 2002; Bazelet et al., 2014). Некоторые представители данного семейства, такие как *Locusta migratoria*, *Calliptamus italicus* и *Schistocerca gregaria*, являются опасными вредителями сельскохозяйственных культур (Heifetz et al., 1994; Sword et al., 2010), образуя огромные мигрирующие рои и нанося значительный вред сельскому хозяйству в периоды крупномасштабных вспышек численности (Gupta, 1983). Переход в роящуюся фазу происходит при достижении большого количества данных насекомых на ограниченной территории, приводя к полифеничным изменениям в их морфологии и миграционному поведению (Uvarov, 1966; Pener et al., 2009; Cullen et al., 2017). Однако, некоторые виды саранчовых могут быть полезны



человеку, например вид *Cornops aquaticum* (подсемейство Leptysminae), был успешно использован в качестве контролирующего агента для водяного гиацинта (*Eichhórnia crássipes*) в Южной Африке (Bownes et al., 2011; Coetzee et al., 2011), а также *Hesperotettix viridis* (подсемейство Melanoplinae), который питается ядовитыми растениями, потенциально опасными для домашнего скота (Sword et al., 2005).

Саранчовые широко распространены на всех материках кроме Антарктиды, занимая самые разнообразные места обитания: пустыни, полупустыни, тропические леса, болота и высокогорные регионы. Вид *Urnsiella rubropunctata* (подсемейство Catantopinae) адаптировался к Австралийскому песчаному ландшафту и способен выдерживать высокие температуры, а также закапываться в песок при возникновении опасности (New, 2010). Существуют виды саранчовых, которые способны преодолевать короткие дистанции под водой, например *Marellia remipes* (подсемейство Marelliinae) из Южной Америки. Голени задних конечностей данных насекомых видоизменены на подобии лопастей весел, что позволяет им передвигаться под водой (Carbonell, 2000), таким образом, избегая насекомоядных птиц. Некоторые виды подсемейств Proctolabinae и Ommatolampidinae приспособились к жизни на макушках тропических деревьев в устье Амазонки (Amédégnato et al., 1979; Amedegnato et al., 2003). Саранчовые, обитающие в высокогорных регионах, характеризуются короткими крыльями и ограниченной способностью к расселению, например виды родов *Melanoplus* (Knowles, 2001; Knowles et al., 2005) и *Orotettix* (Cigliano et al., 2011). Таким образом, саранчовые семейства Acrididae чрезвычайно разнообразны в строении и размере тела, особенностях питания и мест обитания, а также отличительных черт, связанных с их эволюционной историей (Uvarov, 1966; Cigliano et al., 2019) (Рисунок 5).



**Рисунок 5.** Разнообразие семейства Acrididae: (A) *Anacridium aegyptium* (Linnaeus, 1764) (Curtacanthacridinae), Франция; (B) *Dactylotum bicolor* Charpentier, 1845 (Melanoplinae), Мексика; (C) *Kosciuscola tristis* Sjöstedt, 1934 (Oxyinae), Австралия; (D) *Adimantus ornatissimus* (Burmeister, 1838) (Coriocerinae), Аргентина; (E) *Calliptamus italicus* (Linnaeus, 1758) (Calliptaminae), Франция; (F) *Proctolabus mexicanus* (Saussure, 1859) (Proctolabinae), Мексика; (G) *Marellia remipes* Uvarov, 1929 (Marelliinae), Колумбия; (H) *Paulinia acuminata* (De Geer, 1773) (Pauliniinae), Колумбия; (I) *Acrida* sp. (Acridinae), Вьетнам; (J) *Hylopedetes surdus* Descamps & Rowell, 1978 (Rhytidochrotinae), Коста Рика; (K) *Trimerotropis pallidipennis* (Burmeister, 1838) (Oedipodinae), Мексика; (L) *Stenopola puncticeps* (Stål, 1861) (Leptysmiinae), Аргентина; (M) *Rhammatocerus pictus* (Bruner, 1900) (Gomphocerinae), Аргентина; (N) *Abracris flavolineata* (De Geer, 1773) (Ommatolampidinae), Коста Рика; (O) *Hemiacris fervens* Walker, 1870 (Hemiacridinae), Мозамбик. Авторы фото. А, Е, I, N: Ruben Foquet; В, O: Ricardo Mariño-Pérez; С, J: Hojun Song; D, L, M: Maria Marta Cigliano; F, K: Paolo Fontana; G, H: Juan Manuel Cardona (Song et al., 2018).

### ***История изучения семейства Acrididae***

Название семейства Acrididae было впервые предложено Крауссом (1890), основываясь на названии рода *Acrida*. На настоящий момент существует 26 общепризнанных подсемейств семейств Acrididae (Таблица 1), среди которых только пять распространены на более чем одном материке (Acridinae, Cyrtacanthacridinae, Gomphocerinae, Melanoplinae, и Oedipodinae), тогда как остальные имеют более узкие ареалы обитания (Cigliano et al., 2019). Среди оставшихся подсемейств, 14 распространены исключительно на территории Старого Света, а 7 обнаружены только в Америке, в основном Центральной и Южной. Чтобы объяснить подобное распространение, были выдвинуты многочисленные гипотезы, предлагающие различные варианты места возникновения и пути распространения акридид (Carbonell, 1977; Amédégato et al., 1979; Song et al., 2018).

**Таблица 1.** Количество родов и видов в подсемействах Acrididae согласно Orthoptera Species File (Cigliano et al., 2019).

Подсемейство	Количество родов	Количество видов
Acridinae	141	483
Calliptaminae	12	92
Catantopinae	341	1,077
Copiocerinae	21	90
Coptacrinae	20	116
Cyrtacanthacridinae	36	162
Egnatiinae	9	36
Eremogryllinae	2	5
Euryphyminae	23	87
Eupreopnemiidinae	26	159
Gomphocerinae	192	1,274
Habrocneminae	2	3
Hemiacridinae	38	122
Leptysminae	21	79
Marelliinae	1	1
Melanoplinae	145	1,173

**Таблица 1 (продолжение).** Количество родов и видов в подсемействах Acrididae согласно Orthoptera Species File (Cigliano et al., 2019).

Подсемейство	Количество родов	Количество видов
Oedipodinae	137	792
Ommatolampidinae	114	292
Oxyinae	37	307
Pauliniinae	1	1
Pezotettiginae	2	10
Proctolabinae	29	215
Rhytidochrotinae	20	47
Spathosterninae	3	12
Teratodinae	8	24
Tropidopolinae	11	34

В течении истории изучения, семейство Acrididae включало в свой состав различное количество подсемейств в результате соединения с другими семействами, изменения статуса таксонов на более высокий или низкий и т.д. На основе сравнительного анализа копулятивных органов самцов, Р. Робертс выделил Pyrgomorphidae, Pamphagidae, Ommexechidae, и Romaleidae как подсемейства Acrididae (Roberts, 1941).

Однако позже было показано, что данные группы являются отдельными семействами. Позже Дирш В. М. предположил, что группы Dericorythidae, Tristiridae, Romaleidae, и Lithidiidae в состав Acrididae в качестве подсемейств (Dirsh, 1961). В современной классификации данные группы имеют статус отдельных семейств. Несмотря на то, что ранние систематики выделяли различные внешние особенности для классификации саранчовых (Бей-Биенко et al., 1951a; Бей-Биенко et al., 1951b; Rehn et al., 1961), такие как стридуляторные органы, особенности структуры переднеспинки и головы, особенности структуры задних ног и крыльев, авторы более поздних работ рассматривали структуру мужских копулятивных органов как наиболее важный таксономический признак для разделения таксонов высокого ранга (Dirsh, 1973; Eades, 2000). Однако, подобное разделение по одному ключевому признаку привело к расщеплению таксономических групп. Так, Дирш В. М. повысил статус некоторых групп и подсемейств, создав четыре семейства и 40 подсемейств, которые ранее были таксонами более низкого ранга (Dirsh, 1975). Изначально, исследование

таксономического разделения семейства Acrididae было проведено на фауне Европы, Африки, Азии и Северной Америки. Таким образом, ранние классификации были основаны только на видах из данных мест обитания (Бей-Биенко et al., 1951a; Бей-Биенко et al., 1951b; Dirsh, 1961; Rehn et al., 1961). Начиная с 1960 годов, ортоптерологи стали исследовать Южную Америку и открыли ранее неизвестные группы видов, которым был присвоен ранг подсемейств (Amédégno et al., 1979). Стоит отметить, что фауны Южной Азии и Австралии до сих пор изучены не в полной мере (Key, 1992; Song, 2010; New, 2010). Помимо классификаций, предложенных Европейскими и Американскими учеными, существует классификация Китайских авторов (Zheng et al., 1993; Zheng et al., 1998; Yin et al., 2003). Данная таксономическая схема основана на видах, обитающих на территории Китая, и используется Китайскими исследователями до сих пор.

История изучения внутренних взаимоотношений между подсемействами семейства Acrididae подробно изложена в обзоре Х. Кумара (Kumar, 2014). С. Томас (Thomas, 1880) разделил семейство Acrididae на три подсемейства: Acridiinae, Tettiginae и Proscopiinae, а так же подсемейство Acridiinae на три трибы: Truxalini, Oedipodini и Acridiini. Г. Соссюр (Saussure, 1884) определил Oedipodini и Truxalini как трибы подсемейства Oedipodidae и разделил трибу Oedipodini на три группы: Oedipoda, Thrinchus и Eremobia. К. Бруннер (Brunner von Wattenwyl, 1893) определил подсемейства: Acrydiinae, Eumastacinae, Truxalinae, Oedipodinae, Batrachotetrigenae, Pyrgomorphinae, Pamphaginae, Catantopinae, Pneumorinae и Proscopiinae в семейство Acrididae. Г. Максвелл-Лефрой (Maxwell-Lefroy, 1909) разделил семейство Acrididae на девять подсемейств: Tetrigenae, Pneumorinae, Mastacinae, Proscopiinae, Truxalinae, Oedipodinae, Pyrgomorphinae, Pamphaginae и Acridinae.

Уваров Б. П. (Uvarov, 1921) предложил считать Catantopinae как подсемейство семейства Acrididae. Уильямс К. (Willemse, 1951) определил Pamphagidae, Pyrgomorphidae, Catantopidae и Acrididae как отдельные семейства в Acridoidea. Также он определил отдельный статус семейства для Tetrigidae, Pneumoridae, Eumastacidae, Proscopiidae, Pyrgomorphidae, Pamphagidae, Ommexechidae, Romaleidae, Catantopidae и Acrididae и объединил их в надсемейство Acridoidea, разделив семейство Acrididae на два подсемейства: Acridinae and Oedipodinae. Позже, в 1957 К. Уильямс определил Catantopinae как

одно из подсемейств *Acrididae* (Willemse, 1957), на основании присутствия или отсутствия некоторых внешних признаков, таких как выдающийся шип на задней голени, строение вен надкрылий, темной полосы на крыле и некоторых других, предложили разделить семейство *Acrididae* на шесть подсемейств: *Acridinae*, *Oedipodinae*, *Catantopinae*, *Pyrgomorphinae*, *Pamphaginae* и *Egnatiinae*.

Д. Рен (Rehn, 1953) разделил семейство *Acrididae* на четыре подсемейства: *Acridinae*, *Oedipodinae*, *Cyrtacanthacridinae* и *Pyrgomorphinae*. Д. Комсток (Comstock, 1933) определил семейство *Acrididae* как *Locustidae* и разделел на три подсемейства: *Oedipodinae*, *Truxalinae* и *Acrydiinae*, основываясь на присутствии или отсутствии аролиума и длины переднеспинки (протонум). Ч. Брюс (Hinton, 1955) основываясь на длине усиков, формы головы и бедер, а так же некоторых других признаков, разделил *Acrididae* на девять подсемейств: *Acridinae*, *Oedipodinae*, *Cyrtacanthacridinae*, *Pyrgomorphinae*, *Pamphaginae*, *Eumastacinae*, *Pseudurinae*, *Gamphomastacinae* и *Chorocetyphinae*. Д. Б. Мейсон (Mason, 1954) на основе количества сегментов усиков, разделила данное семейство на десять подсемейств: *Pyrgomorphinae*, *Charilainae*, *Trigonopteryginae*, *Ommexechinae*, *Oedipodinae*, *Egnatiinae*, *Acridinae*, *Pauliniinae*, *Catantopinae* и *Pamphaginae*. Г. Б. Джонстон (Johnston, 1956) разделил семейство *Acrididae* на восемь подсемейств: *Pamphaginae*, *Pyrgomorphinae*, *Catantopinae*, *Oedipodinae*, *Truxalinae*, *Lethicerinae*, *Pamphagodinae* и *Egnatiinae*. В 1968 он изменил ранг *Pamphagidae* и *Pyrgomorphidae* и выделил их как отдельные семейства, так же он разделил семейство *Acrididae* на четырнадцать подсемейств: *Dericorythinae*, *Romalinae*, *Tropidopolinae*, *Oxyinae*, *Coptacridinae*, *Calliptaminae*, *Euryphyminae*, *Eupreopnemiidinae*, *Catantopinae*, *Cyrtacanthacridinae*, *Egnatiinae*, *Acridinae*, *Eremogryllinae* и *Truxalinae* (Johnston, 1968).

Таким образом, таксономия семейства *Acrididae* изменялась многократно и вызывала споры между исследователями (Song et al., 2018). В 19 и 20 веках не было общепризнанного определения таксонов, составляющих семейство *Acrididae*, и данное семейство использовалось как сборная группа для видов, которые было сложно отнести к какой-либо другой группе (Eades, 2000).

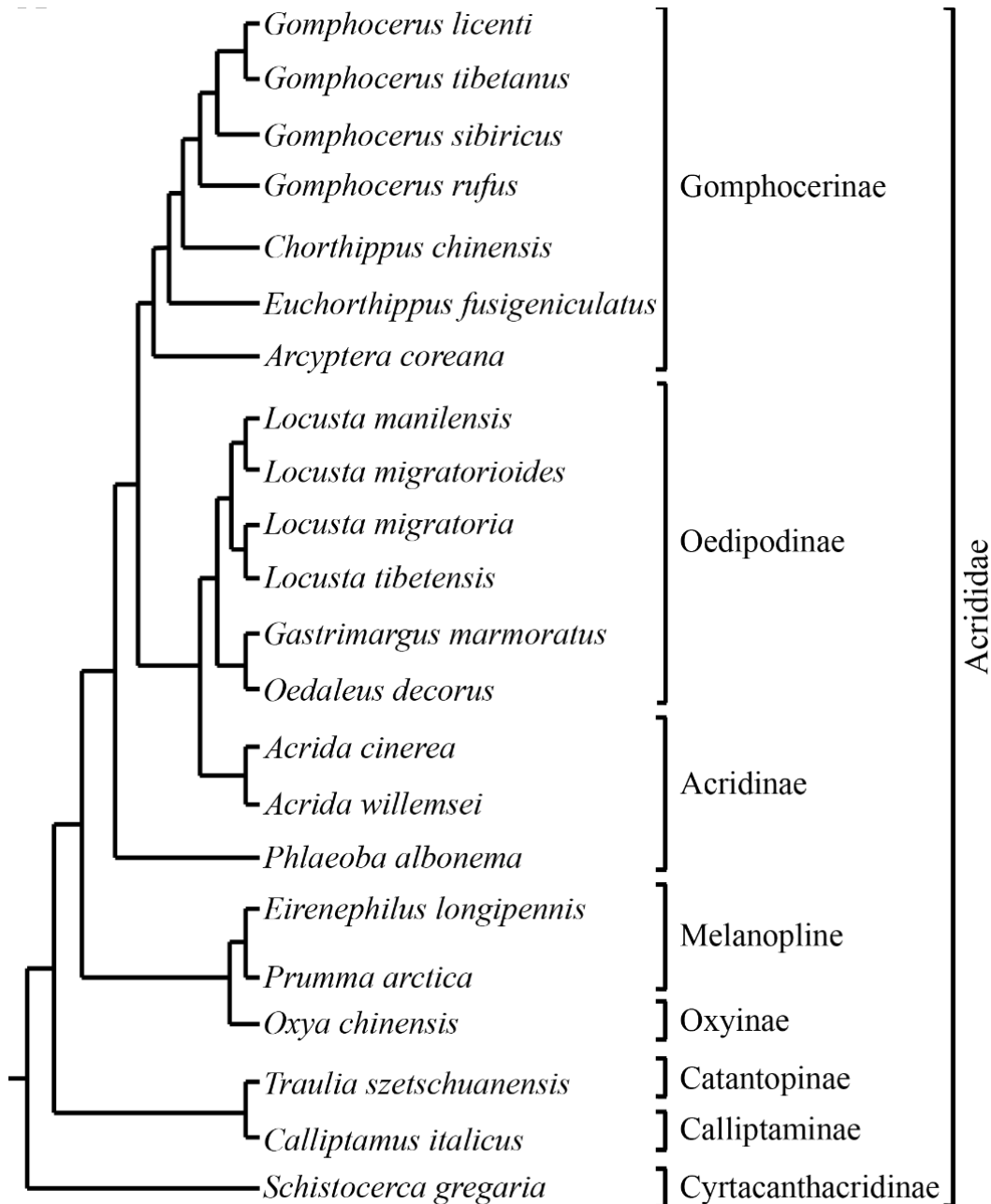
Исследования филогении прямокрылых насекомых на различных таксономических уровнях (отряд, подотряд надсемейство, семейство) методами молекулярной филогении начали проводиться в конце 90-х годов 20 века (Simon et

al., 1994; Flook et al., 1997; Chapco et al., 1999). Однако в большинстве исследований было использовано ограниченное количество видов прямокрылых насекомых, что не позволяло достоверно установить филогенетические взаимоотношения внутри таксономических групп с большим количеством видов.

Полной и исчерпывающей филогении семейства Acrididae так и не было предложено, однако на уровне отдельных подсемейств были предложены варианты филогении, опирающиеся на морфологические признаки или на молекулярные данные (Chapco et al., 1999; Bugrov et al., 2006; Contreras et al., 2006; Fries et al., 2007; Chapco et al., 2011; Chintauan-Marquier et al., 2011; Nattier et al., 2011; Chapco, 2013; Chintauan-Marquier et al., 2014). Первой работой по молекулярной филогении видов подотряда Caelifera была работа П. К. Флука и Х. Ф. Ровелла (Flook et al., 1997), в которой были использованы участки митохондриальных рибосомных РНК генов. В их работу были включены 12 видов акридид принадлежащих четырем подсемействам, однако в состав семейства Acrididae также вошли виды семейства Pamphagidae, что не позволило установить монофилию акридид как семейства. В своем исследовании гениталий самцов видов суперсемейства Acridoidea Д. Идес (Eades, 2000) предположил, что все акрииды имеют сильно выраженный арочный склерит на копулятивных органах (arch sclerite), в то время как остальные семейства Acridoidea не имеют подобной структуры. Исключением является семейство Pamphagodidae, в котором данная структура, возможно, образовалась независимо. Д. Лю с соавторами предложил филогению семейства Acrididae используя 24 вида, обитающих на территории Китая, и обнаружил, что подсемейства Acridinae и Catantopinae парафилетичны, тогда как подсемейства Cyrtacanthacridinae, Oxyinae, и Oedipodinae – монофилетичны (Liu et al., 2009). Б. Ли с соавторами была предложена филогения Catantopidae, основанная на анализе 87 родов и 88 морфологических признаков (Li et al., 2011). Catantopidae признается китайскими исследователями отдельным семейством, которое включает в свой состав виды с переднегрудным отростком (prosternal process). Однако, так как в работе Б. Ли с соавторами не были включены виды без переднегрудного отростка (такие как виды подсемейств Acridinae, Oedipodinae и Gomphocerinae), или виды Нового Света у которых такая структура есть (Ommatolampidinae, Leptysminae, Rhytidochrotinae, Copiocerinae, и Proctolabinae), то рассматривать данную филогению стоит с осторожностью.

Первые наиболее представительные варианты молекулярной филогении семейства Acrididae были предложены Ж. Хуаном с соавторами (Huang et al., 2013) для представителей нескольких подсемейств на основе последовательностей COI гена и У. Чапко (Charco et al., 2011) для трех подсемейств на основе последовательностей нескольких митохондриальных генов. На основании филогенетического анализа последовательностей гена NADH дегидрогеназы методом Байеса в семействе Acrididae было выделено восемь подсемейств: Cyrtacanthacridinae, Calliptaminae, Catantopinae, Oxyinae, Melanopline, Acridinae, Oedipodinae, Gomphocerinae (Рисунок 6) (Huang et al., 2013). Подсемейства, входящие в Acrididae были объединены в три группы: первая группа содержит (Catantopinae + Cyrtacanthacridinae + Calliptaminae + Oxyinae + Melanopline); вторая группа (Oedipodinae + Acridinae), и третья содержит только подсемейство Gomphocerinae (Рисунок 6). Аналогичные результаты были получены при сравнении последовательностей рРНК (V) (объединенных вариабельных доменов двух генов рРНК). Однако данный вариант филогении семейства Acrididae имеет ряд несоответствий с систематиками, предложенными ранее и основанными на морфологических различиях видов семейства (Fenn et al., 2008; Sheffield et al., 2010; Sun et al., 2010; Zhao et al., 2010).





**Рисунок 6.** Филогенетическое древо семейства Acrididae, реконструированное на основе последовательностей NADH дегидрогеназы по методу Байеса (Huang et al., 2013).

Д. Ливитт с соавторами (Leavitt et al., 2013) показал монофилию семейства Acrididae, используя полные митохондриальные последовательности 34 видов подотряда Caelifera, 16 из которых принадлежали семейству Acrididae и представляли восемь подсемейств. Х. Сонг с коллегами (Song et al., 2015), предложил обширную молекулярную филогению прямокрылых, основанную на четырех ядерных генах (18S и 28S рРНК, гистон 3 и ген wingless) 254 видов, а также 69 митохондриальных геномов. В данной работе были исследованы 87 видов акриид и подтвержден результат Д. Ливитта о монофилии семейства Acrididae.

Однако полученное филогенетическое древо на основе ядерных маркеров показало очень короткие ветви внутри семейства, таким образом, использованные ядерные гены слишком консервативны, и не дают достаточного сигнала для разрешения филогенетических взаимоотношений среди видов семейства *Acrididae*. Наиболее полный филогенетический анализ был проведен на основе 134 таксонов, включающих 21 подсемейство *Acrididae* (Song et al., 2018). В данном исследовании были предложены четыре основные группы акридид, однако их статистическая поддержка была невысокой, что не позволяет с уверенностью установить взаимоотношения между большинством подсемейств. Стоит отметить, что в их анализе отсутствовали виды, преобладающие в Европе и Евразии. В стремлении создать единую систему классификации, Д. Отте в 1995 опубликовал *Orthoptera Species File*, который позже лег в основу электронной версии принимаемой большинством ортоптерологов (Cigliano et al., 2019). В настоящее время для семейства *Acrididae* в OSF представлены 26 подсемейств, несколько триб и родов, не относящихся к какому-либо подсемейству.

Таким образом, *Acrididae* – это большое семейство саранчовых, которое изучается на протяжении столетий, систематика которого до сих пор вызывает разногласия между учеными. Споры возникают, в основном, из-за статуса той или иной группы видов, чаще всего на уровне подсемейств. Однако существенной проблемой является не только определение взаимоотношений между различными подсемействами *Acrididae*, но и видовое представительство подсемейств. Так, 4 подсемейства содержат в своем составе всего от 1 до 5 различных видов (*Eremogryllinae*, *Habrocneminae*, *Marelliinae* и *Pauliniinae*). Ареал обитания представителей этих подсемейств, как правило, очень ограниченный и правомерное выделение их в отдельные подсемейства требует тщательного филогенетического анализа.

### **Семейство *Pamphagidae***

Семейство *Pamphagidae* (Burmeister, 1840), это относительно небольшое семейство суперсемейства *Acridoidea*, состоящее по разным оценкам от 400 до 561 видов и примерно 90 родов (Ünal, 2016; Cigliano et al., 2019). В настоящий момент в OSF выделяется пять подсемейств (Таблица 2). Несмотря на небольшой размер и

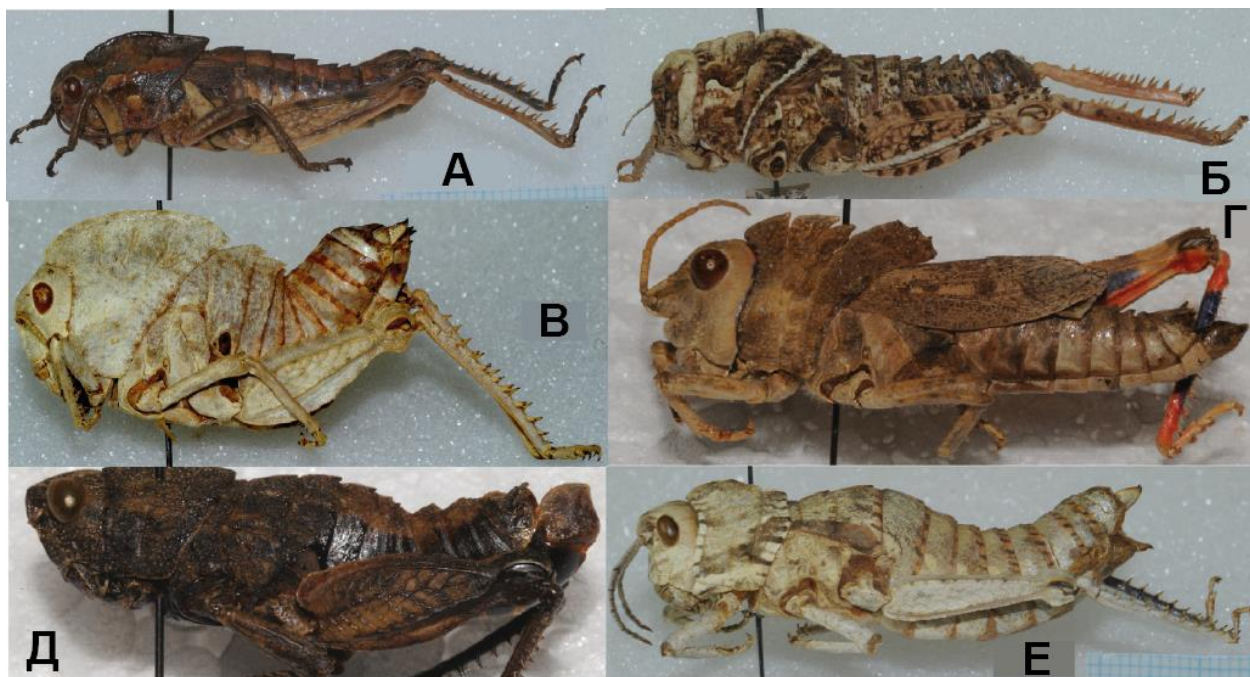
разнообразие семейства, положение некоторых таксонов, а также их статус, вызывают значительные разногласия. Например, триба Nocarodeini (согласно OSF) считается подсемейством, тогда как в работе Д. Чжана (Zhang et al., 2003) некоторые роды этой трибы формируют отдельное подсемейство. До недавнего времени положение трибы Naplotropidini в одном из двух подсемейств (Pamphaginae или Trinchinae) вызывало споры между ортоптерологами. В работе Сухих И.С. с соавторами было предложено решение данного разногласия на основе филогенетического анализа митохондриальных генов и ITS2 участка видов семейства Pamphagidae. (Sukhikh et al., 2019). Таким образом, использование молекулярных методов способствует разрешению споров касательно филогении Pamphagidae.

**Таблица 2.** Количество родов и видов в подсемействах Pamphagidae согласно OSF.

Подсемейство	Количество родов	Количество видов
Akicerinae	4	28
Echinotropinae	4	9
Pamphaginae	40	184
Porthetinae	14	49
Trinchinae	26	137

### *Экология семейства Pamphagidae*

Виды семейства Pamphagidae обитают исключительно в Палеарктике и тропических регионах Африки (Kirby, 1910; Бей-Биенко et al., 1951a; Бей-Биенко et al., 1951b; Greca La, 1998; Massa, 2013; Cigliano et al., 2019) (Рисунок 7). Такое распределение обусловлено их появлением на территории Африки в середине Мелового периода, когда Африканская плита уже была отделена от Австралии, Южной Америки, Индии и Малайзии (Greca La, 1998). Причем большая часть видов распределена по Палеарктике, в то время как Африканские виды имеют меньшее видовое разнообразие (Cigliano et al., 2019). Виды семейства Pamphagidae зачастую образуют небольшие популяции, занимая ограниченные и специфичные места обитания, приспособившись к жизни в особых условиях (Lopez et al., 2007). Например, некоторые эндемичные роды Pamphagidae, обитающие на территории Китая, предпочитают заселять сухие горные регионы и с высотой от 30 до 800 метров над уровнем моря.

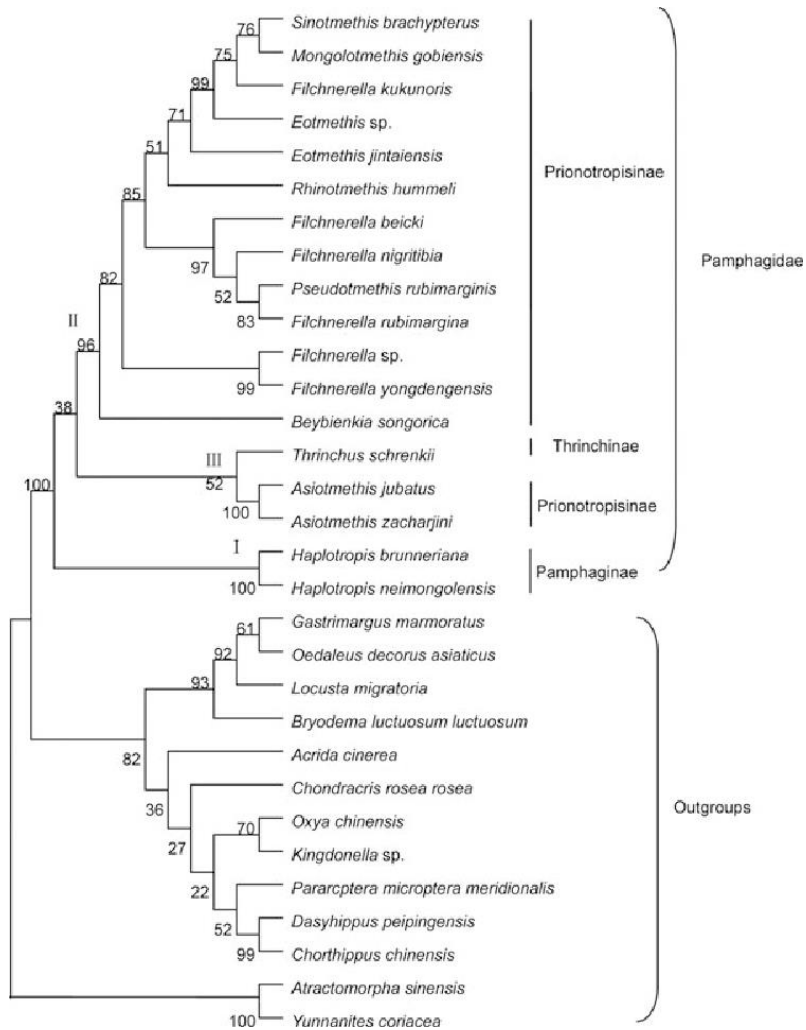


**Рисунок 7.** Разнообразие семейства Pamphagidae: А - *Haplotropis brunneriana* (Haplotropidini, Thrinchinae); Б - *Prionotropis maculinervis* (Thrinchini, Thrinchinae); В - *Tropidauchen escalerae* (Tropidauchenini, Pamphaginae); Г - *Rhinotmethis beybienkoi* (Thrinchini, Thrinchinae); Д - *Paranothrotes citimus* (Nocarodeini, Pamphaginae); Е - *Paracinipe suezensis* (Pamphagini, Pamphaginae) (Ünal, 2016).

### ***История изучения семейства Pamphagidae***

Монофилия семейства Pamphagidae была подтверждена как морфологическими, так и молекулярными исследованиями (Song et al., 2018). Виды данного семейства имеют жесткое, шероховатое тело, не коническую голову, наличие, у большинства видов, органа Краусса и особого строения мужских половых органов. Несмотря на общепризнанную монофилию семейства Pamphagidae, у исследователей нет общего мнения относительно количества подсемейств и других таксонов, а также их взаимоотношений внутри семейства. Дирш В. М. (Dirsh, 1975) предложил таксономическую систему Африканских видов Pamphagidae основанную на морфологических признаках и выделил четыре подсемейства (Echinotropinae, Porthetinae, Akicerinae, Pamphaginae), в то время как Д. Чжан, исследуя виды обитающие на территории Евразии, выделил шесть подсемейств, включающих 47 родов (Prionotropisinae, Thrinchinae, Pamphaginae, Tropidaucheninae, Nocarodesinae, Orchaminae) (Zhang et al., 2003).

В последние десятилетия для исследования филогенетических взаимоотношений близкородственных видов и популяций семейства Pamphagidae все чаще применяется анализ мтДНК (Desalle, 1992; Flook et al., 1997; Davison et al., 2001; Ren et al., 2002; Zhang et al., 2003; Zhang et al., 2011a; Zhang et al., 2011b). Стоит отметить, что в OSF были выделены восемь подсемейств в 2009 году (Zhang et al., 2011b), и пять в 2019 (Cigliano et al., 2019). Наиболее представительный анализ был представлен Д. Чжаном с соавторами на основе последовательностей COII (Zhang et al., 2011a) (Рисунок 8), однако количество использованных видов и представленных подсемейств не позволяет сделать значительные выводы о взаимоотношениях таксонов в семействе Pamphagidae. Таким образом, проблемные моменты филогении семейства Pamphagidae все еще находятся в процессе разрешения.



**Рисунок 8.** Филогенетическое древо семейства Pamphagidae, построенное на основе нуклеотидных последовательностей COII, с помощью метода Ближайших соседей. Бутстреп поддержка показана на основаниях ветвей (Zhang et al., 2011a).

Количество исследований по филогении семейства Pamphagidae относительно скромно, по сравнению с семейством Acrididae. Кроме того, большая часть исследований памфагид проводилась в рамках изучения акридид и других семейств подотряда Caelifera (Saussure, 1884; Бей-Биенко et al., 1951a; Бей-Биенко et al., 1951b; Uvarov, 1966; Flook et al., 1997; Greca La, 1998; Massa, 2013).

Таким образом, Pamphagidae является малоизученным семейством саранчовых по сравнению с Acrididae. Однако оно представляет значительный интерес для исследователей как группа, в которой имеется большое количество эндемичных видов с интересной эволюционной историей. Несмотря на то, что Acrididae и Pamphagidae являются, в некотором смысле, противоположными семействами по количеству видов и степени изученности, их объединяет общий интерес исследователей, а также сложность проблем в филогенетических взаимоотношениях между группами видов данных семейств.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Сбор природного материала

Все образцы видов семейства Acrididae и Pamphagidae были собраны на территориях Дальнего Востока, Сибири, Центральной Азии, Кавказа, Турции, Японии и Южной Африки в период 2008-2015 годов (Приложение 1). Все образцы были определены и предоставлены проф. А.Г. Бугровым (ИСЭЖ СО РАН, НГУ).

### Выделение геномной ДНК

Тотальная ДНК была выделена из мышечных тканей взрослого насекомого с помощью набора реактивов DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) (Германия), согласно протоколу фирмы-производителя.

### Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Для амплификации фрагмента митохондриального гена *coII* использовали праймеры C2J (5' – AGAGCTTCTCCTTTAATAGAACA – 3') и C2N (5' – CCACAAATTTCTGAACATTGACCA – 3') (Folmer et al., 1994).

Для амплификации фрагмента митохондриального гена *coI* использовали праймеры 911 (5' – TTTCTACAAATCATAAAGATATTGG – 3') и 912 (5' – TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA – 3') (Bugrov et al., 2006).

Для амплификации фрагмента спейсера ITS2 использовали праймеры 2A (5' – TGTGAACTGCAGGACACAT – 3') и 2B (5' – TATGCTTAAATTCAGGGGG – 3') (Porter et al., 1991; Walton et al., 1999).

Реакции проводили в объеме 20 мкл в амплификаторе PC-Personal-Cycler (Biometra). Каждая реакция содержала: 0.1 нг ДНК, 200 мкМ каждого из трифосфатов (dNTP), 20 мкМ каждого праймера, 1.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50 мМ KCl, 10 мМ Трис-HCl (pH 9.0, 25°C), 1% Тритон X-100 и 2.5 е.а., Taq ДНК-полимеразы. Программа ПЦР амплификации включала в себя предварительную денатурацию (2 мин. при 94°C) с последующими 30 циклами со следующим температурным профилем: 30 сек. при 94°C, 30-60 сек. при 42°C, 1 мин. при 72°C.

### **Разделение фрагментов ДНК в агарозном геле**

Для электрофоретического разделения фрагментов ДНК использовали 1.2% агарозный гель, приготовленный на буфере TAE (40 mM Трис-НСl (pH 8.0), 20 mM NaAc, 1 mM ЭДТА и 0.01 мкг/мл бромистый этидий). Образцы, содержащие 0,3-0,5 мкг ДНК, наносили с добавлением 1/10 объема буфера, содержащего 50% глицерина, 0,3% бромфенолового синего и 0,3% ксиленцианола. Электрофорез проводили в течение 0,5-2 часов при напряженности электрического поля 3-7 В/см. Визуализацию фрагментов ДНК осуществляли в ультрафиолетовом свете (254 нм).

Для выделения фрагментов ДНК из агарозного геля использовали набор реактивов QIAquick Gel Extraction Kit, согласно инструкции производителя.

### **Определение нуклеотидных последовательностей**

Определение нуклеотидной последовательности проводили при помощи автоматического секвенирования. Включение метки проводилось при помощи реакции Сэнгера с использованием реагента BigDye Terminator Ready Reaction Mix v. 3.0 (Applied Biosystems). Реакция проводилась в объеме 10 мкл. Реакционная смесь содержала 50-100 нг ДНК-матрицы, 3,2 мкМ праймера, 4 мкл Terminator Ready Reaction Mix.

Реакцию проводили в следующем температурном режиме: предварительная денатурация (94°C, 3 мин.) и 20 циклов, включающих денатурацию (96°C, 10 сек.), отжиг (50°C, 5 сек.), элонгацию (60°C, 4 мин.).

Продукт реакции осаждали при помощи изопропанола. К 10 мкл реакционной смеси добавляли 30 мкл воды и 60 мкл 100% изопропанола и тщательно перемешивали. Оставляли при комнатной температуре на 30 мин., после чего центрифугировали 10 мин. при 12000 об./мин. Супернатант отбирали и добавляли 100 мкл 70% этилового спирта, снова центрифугировали 5 мин. Удаляли супернатант и сушили осадок при комнатной температуре. Определение нуклеотидной последовательности проводилось в центре коллективного пользования «Геномика» СО РАН (<http://sequest.niboch.nsc.ru>).



## Поиск последовательностей в генетических базах данных

Для поиска полных нуклеотидных митохондриальных последовательностей, митохондриальных генов COI, COII и CytB, а также ядерного ITS2 видов саранчовых использовалась база данных NCBI GenBank. Логический поиск последовательностей проводился по следующим запросам: «Caelifera AND mitochondrion, complete genome», «Acrididae AND mitochondrion, complete genome», «Acrididae AND COI», «Acrididae AND cytochrome oxidase I», «Acrididae AND COII», «Acrididae AND cytochrome oxidase II», «Acrididae AND Cytb», «Acrididae AND cytochrome b», «Acrididae AND ITS2», «Pamphagidae AND mitochondrion, complete genome», «Pamphagidae AND COI», «Pamphagidae AND cytochrome oxidase I», «Pamphagidae AND COII», «Pamphagidae AND cytochrome oxidase II», «Pamphagidae AND ITS2». Также проводился поиск для видов семейства Tettigoniidae (подотряд Ensifera), которые послужили в качестве внешней группы к видам подотряда Caelifera - «Tettigoniidae AND mitochondrion, complete genome».

Полученные последовательности были собраны в выравнивания следующего типа: полные кодирующие митохондриальные последовательности, конкатенированные последовательности митохондриальных генов COI, COII и CytB, а также ядерные ITS2 последовательности.

## Построение выравниваний нуклеотидных последовательностей

Все выравнивания были построены используя алгоритм MAFFT в программе MAFFT v7.312 (Kato et al., 2013) с параметрами --localpair и --maxiterate 1000.

Для анализа полных митохондриальных последовательностей, из каждой последовательности были выделены 13 кодирующих генов, которые в дальнейшем были конкатенированы воедино, от старт-кодона до стоп-кодона. Таким образом, были отобраны только кодирующие последовательности.

Изначальное разделение на части было выполнено вручную. Каждый белок-кодирующий ген был разбит на три части, соответствующих кодонным позициям. Далее была автоматически подобрана подходящая модель нуклеотидных замен для каждой части используя программу PartitionFinder v 2.1.1 (Lanfear et al., 2017) с

параметрами --unlinked и --greedy. В ходе работы программы совокупности частей со схожими моделями были объединены. Таким образом исходное выравнивание было разбито на 29 частей выравнивания из 39 возможных.

Выравнивание конкатенированных нуклеотидных последовательностей COI+COII+CytB и COI+COII были построены аналогичным образом, но для трех и двух генов соответственно. В результате было выбрано восемь частей из девяти возможных для COI+COII+CytB, и для COI+COII было выбрано все шесть частей.

В отличие от митохондриальных последовательностей, выравнивание нуклеотидных последовательностей ITS2 не нуждалось в разбиении на части, из-за относительно короткой длины данного маркера. Далее, полученные выравнивания были использованы для филогенетического анализа.

### **Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей**

Для каждого набора последовательностей были построены филогенетический дерева методом Максимального Правдоподобия в программе IQ-tree (Trifinopoulos et al., 2016). Используя выходные данные программы PartitionFinder 2.0 (Lanfear et al., 2017) были подобраны модели нуклеотидных замен с помощью IQ-tree. Для определения лучшей схемы моделей нуклеотидных замен использовались параметры –auto и +R (FreeRate heterogeneity), основным параметром являлся наименьшее значение критерия Акаике (AICc) (Akaike, 1974).

Для статистической поддержки максимального правдоподобия в программе IQ-Tree были использованы два коэффициента: “SH-like aLRT” (1000 репликаций) и сверхбыстрый бутстреп (“UfBoot”, 1000 репликаций). Для более тщательной оценки бутстреп поддержки был добавлен коэффициент “transfer bootstrap” с помощью алгоритма Booster (Lemoine et al., 2018). Данный подход позволил включить кластеры, которые могут отсутствовать при обычном бутстрепе методом Фельхенштейна (Felsenstein, 1985).

В дополнение к методу максимального правдоподобия, для построения филогенетический деревьев был использован метод Байеса с помощью программы MrBayes 3.2.6 (Huelsenbeck et al., 2001). Для установления моделей нуклеотидных

замен также были использованы данные PartitionFinder 2.0 специфичные для программы MrBayes, так как данная программа использует отличные от IQ-tree наборы моделей нуклеотидных замен. Для каждого набора последовательностей были использованы следующие параметры: 2.5 миллиона генераций (ngen), отбор проб каждые 250 генераций (samplefreq), с 8 цепями (nchains=8) и “температурой” нагрева цепей 0.2 (temp).

Таким образом, для каждого набора последовательностей были собраны четыре значения поддержки: SH-like aLRT, сверхбыстрый бутстреп, значения “Transfer” бутстрепа и Байесовские постериорные вероятности. Согласно инструкции программы IQ-tree, коэффициенты поддержки более 80 для SH-like aLRT и более 95 для “UfBoot” можно считать достаточно достоверными (Guindon et al., 2010; Minh et al., 2013). Для “Transfer” бутстрепа рекомендуется считать ветви с более чем 70% как достоверные (Lemoine et al., 2018). Однако, в данной работе был использован более высокий лимит для достоверных ветвей – более 80%. Достоверная поддержка Байесовских коэффициентов может отличаться в зависимости от типа анализа, таким образом были подобраны значения для потенциально возможных ветвей (более 80%) и для ветвей с хорошей поддержкой (более 90%).

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### Поиск последовательностей в нуклеотидных базах данных и установление последовательностей экспериментальным путем

В проведенном филогенетическом анализе были использованы полные митохондриальные последовательности, конкатенированные последовательности трех митохондриальных генов (COI, COII, Cytb), конкатенированные последовательности двух митохондриальных генов (COI, COII) а также последовательности межгенного рибосомального спейсера ITS2. Для COI, COII и ITS2 маркерных генов были подобраны подходящие условия амплификации фрагментов нуклеотидных последовательностей. Поскольку выбранные праймеры специфичны для всех насекомых, и виды семейства Acrididae имеют большое генетическое разнообразие, отжиг проводился при минимальной возможной температуре для данных праймеров (42°C). Данный температурный режим позволил амплифицировать последовательности как видов семейства Acrididae, так и Pamphagidae. Далее, *de novo* были установлены нуклеотидные последовательности для 68 видов семейства Acrididae и 49 видов семейства Pamphagidae. Полная информация о источниках всех использованных в настоящей работе последовательностях представлена в Приложении 1 и 2.

Построение филогенетических деревьев семейства Acrididae начиналось с видов, для которых были установлены полные нуклеотидные последовательности, а затем на конкатенированных COI, COII и Cytb последовательностях. Деревья, построенные только на основе конкатенированных последовательностей генов COI и COII, имеют низкие коэффициенты поддержки для большинства ветвей уровня подсемейства, и не дают достоверных результатов, однако их топологии соответствуют деревьям с большим количеством митохондриальных генов. Маркер ITS2, представляющий собой последовательность участка ядерных рибосомных генов, был использован с целью подтверждения результатов филогенетического анализа, основанного на митохондриальных маркерах.

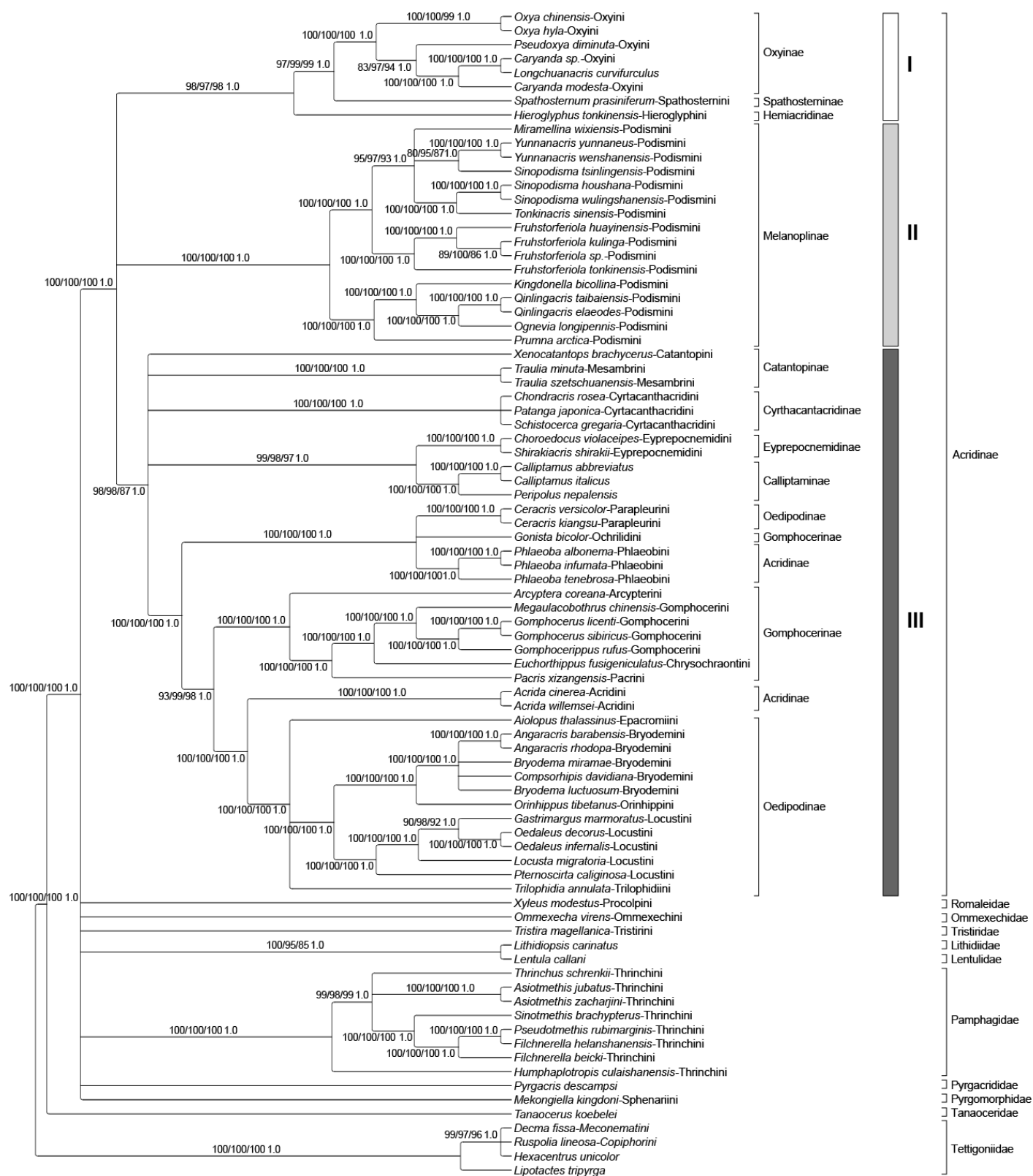
Для построения филогенетических деревьев видов семейства Pamphagidae использовались последовательности двух митохондриальных генов COI и COII. Были сконструированы как индивидуальные деревья для каждого гена, так и дерево для

конкатенированных последовательностей COI и COII. Деревья, построенные на основе отдельных COI и COII генов, показывают более низкие коэффициенты поддержки чем на конкатенированном дереве, однако их топологии соответствуют. Как и в случае с Acrididae, в анализе был использован ITS2 участок для подтверждения результатов филогенетического анализа, основанного на митохондриальных маркерах.

### **Филогенетический анализ видов семейства Acrididae**

#### ***Полные митохондриальные последовательности***

На 2019 год в базе данных Genbank установлены полные последовательности митохондриальных геномов для 63 видов из 11-ти подсемейств семейства Acrididae (Benson et al., 2018). Кроме видов семейства Acrididae для построения филогенетических деревьев были использованы полные митохондриальные последовательности 16 видов, представляющих девять разных семейств подотряда Caelifera, использованных в качестве внешней группы по отношению к видам семейства Acrididae (Рисунок 9). Кроме того, на древе присутствует четыре вида семейства Tettigonidae, представляющих подотряд Ensifera и являющиеся внешней группой по отношению к представителям Caelifera. Все виды семейства Acrididae образуют на древе единую монофилетическую ветвь. Каждое из девяти других семейств подотряда Caelifera также формирует ветвь, уникальную для данного семейства, равно как и представители Tettigonidae.



**Рисунок 9.** Филогенетическое древо, построенное на основе полных кодирующих митохондриальных последовательностей видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия и Байеса. Коэффициенты поддержки обозначены как SH-Like aLTR/UfBoot/Booster и Поддержка по Байесу. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства и семейства.

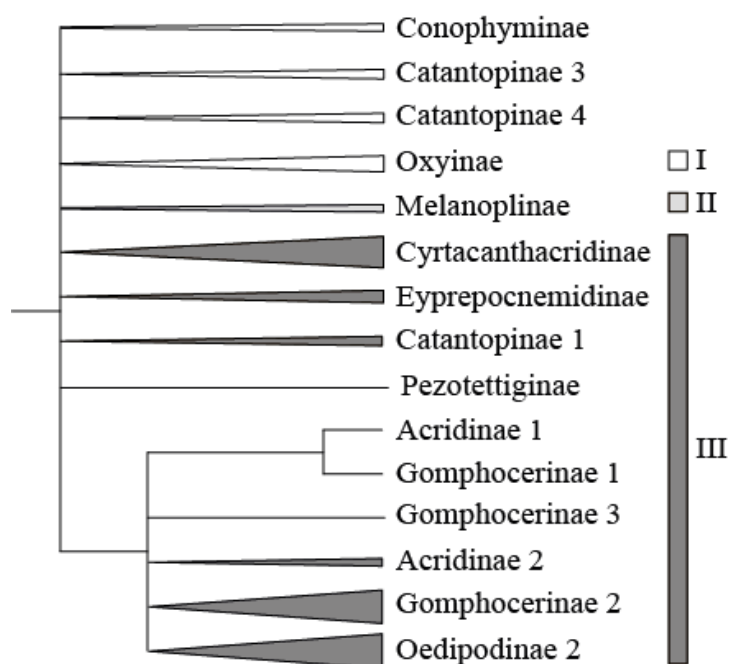
Внутри ветви, сформированной видами семейства Acrididae, присутствуют три филогенетические группы. В состав первой группы (I) входят представители трех подсемейств, Oxyinae, Spathosterninae и Hemiacridinae, вторая группа (II) монофилетична и состоит исключительно из видов подсемейства Melanoplineae, а третья группа (III) сформирована видами семи подсемейств: Acridinae, Calliptaminae, Catantopinae, Cyrtacanthacridinae, Eupreprocnemidinae, Gomphocerinae, Oedipodinae.

Внутри филогенетической группы III расположены семь кластеров, два из которых принадлежат видам подсемейства Catantopinae, а еще два – подсемействам Cyrtacanthacridinae и Gomphocerinae, соответственно. Оставшиеся три кластера сборные и содержат в своем составе представителей более одного подсемейства. Первый из них представлен видами подсемейств Calliptaminae и Eupreprocnemidinae. Второй кластер образован в основном видами подсемейства Oedipodinae, но кроме них в этом кластере присутствуют виды рода *Acrida* (Acridinae) и вид *Orinhippus tibetanus* (Gomphocerinae). Третий кластер филогенетической группы III объединяет виды родов *Ceracris* (Oedipodinae), *Gonista* (Gomphocerinae) и *Phlaeoba* (Acridinae). Три кластера, объединяющие подсемейства Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae, формируют отдельную группу внутри филогенетической группы III, что говорит о филогенетической близости этих подсемейств. Таким образом, представители подсемейств Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae, присутствуют более чем одном кластере, что указывает на полифилетический состав данных подсемейств. Подсемейство Catantopinae представлено на древе тремя видами. *Xenocatantops brachycerus* (Catantopini) и два вида рода *Traulia* (Traulini) формируют на древе две независимые ветви. Этот факт также говорит о полифилетичности подсемейства Catantopinae.

### ***ITS2 последовательности***

На рисунке 10 представлено схематичное изображение дерева, построенного на основе ITS2 последовательностей для 96 видов саранчовых, принадлежащих 10-ти подсемействам, восемь из которых (Acridinae, Catantopinae, Cyrtacanthacridinae, Eupreprocnemidinae, Gomphocerinae, Melanoplineae, Oedipodinae и Oxyinae) присутствуют на полном митохондриальном древе (Приложение 3). По сравнению с митохондриальным древом, на ITS2 древе появляются подсемейства Conophyminae и Pezotettiginae, но отсутствуют подсемейства Calliptaminae, Spathosterninae и Hemiacridinae. На ITS2 древе расположены 13 кластеров, 12 из которых соответствуют отдельным подсемействам.

Четыре из этих кластеров образуют единую группу, в состав которой входят виды трех подсемейств, Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae, как и на полном митохондриальном древе. Каждое из трех подсемейств формирует в группе отдельный кластер, а два вида, *Gonista africa* и *Duronia chloronota*, описанные как представители подсемейств Gomphocerinae и Acridinae, соответственно, формируют отдельный кластер внутри группы. Каждый из оставшихся восьми кластеров образован только видами одного подсемейства.



**Рисунок 10.** Схематическое изображение филогенетического древа, построенного на основе ITS2 последовательностей видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия и Байеса (Приложение 3). Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства. Арабскими цифрами пронумерованы разные ветви с видами, принадлежащие одному подсемейству, номера ветвей соответствуют аналогичным группам видов на рисунках 10-13.

Таким образом, древо, построенное на ITS2 последовательностях, не противоречит древу, построенному на полных митохондриальных последовательностях, хотя на нем не формируются филогенетические группы, как на митохондриальном древе. Использование ITS2 маркера позволяет четко разделять подсемейства между собой, но не позволяет установить между ними филогенетический взаимоотношения, кроме представителей подсемейств Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae, образующих единую группу, как и на полном митохондриальном древе.

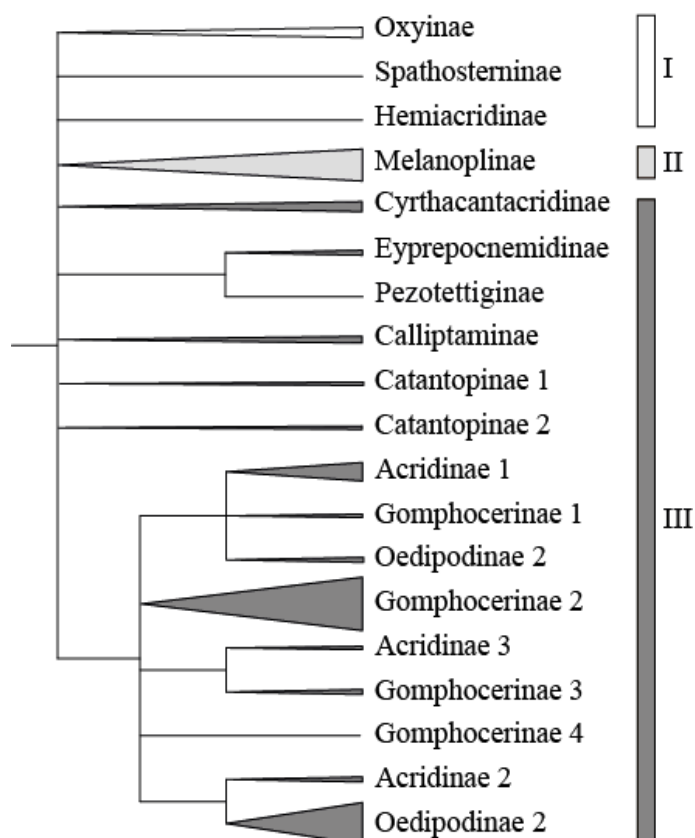


Виды трех подсемейств, Acridinae, Gomphocerinae и Catantopinae, на ITS2 древе входят в состав более чем одного кластера, как и на митохондриальном древе, что говорит о полифелитичности этих подсемейств. Как уже было отмечено выше, два вида, *Gonista africa* и *Duronia chloronota*, представляющие подсемейства Gomphocerinae и Acridinae формируют отдельный кластер, что указывает на их филогенетическую близость между собой и удаленность от других видов этих подсемейств. Подсемейство Catantopinae представлено на древе видами четырех родов: *Xenocatantops*, *Arminda*, *Phaulacridium* и *Sigauss*. При этом три вида рода *Arminda* формируют на древе один кластер, три вида родов *Phaulacridium* и *Sigauss* – другой, а *Xenocatantops brachycerus* – третий.

Объединение подсемейств Cyrthacantacridinae, Eupreopscnemidinae и одной ветви Catantopinae (род *Xenocatantops*) на данном древе в третью группу, обусловлено их положением на древе, построенном на основе полных митохондриальных последовательностей. Виды подсемейства Pezotettiginae также входят в третью группу, согласно их положению на древе, построенном на основе трех митохондриальных маркеров (см. ниже). Однако отношение ветвей с видами подсемейств Catantopinae (роды *Arminda*, *Phaulacridium* и *Sigauss*) и Conophyminae к трем группам не удается точно установить, из-за их отсутствия на других деревьях.

### **Конкатенированные COI, COII и Cytb последовательности**

На следующем этапе филогенетического анализа были использованы конкатенированные последовательности митохондриальных генов COI, COII и Cytb (Рисунок 11; Приложение 4). Общее количество исследованных видов достигло 129, представляющих 12 подсемейств, 11 из которых совпадают с подсемействами на древе, построенном на основе полных митохондриальных последовательностей (Приложение 1).



**Рисунок 11.** Схематическое изображение филогенетического дерева, построенного на основе конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI, COII и Cytb видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия и Байеса (Приложение 4). Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства. Арабскими цифрами пронумерованы разные ветви с видами, принадлежащие одному подсемейству, номера ветвей соответствуют аналогичным группам видов на рисунках 10-13.

На древе выделяются те же три группы видов, что и на полном митохондриальном древе, однако состав этих групп претерпел некоторые изменения. В первой группе (I) остались только виды подсемейства Oxyinae, а два вида, представляющих подсемейства Spathosterninae и Hemiacridinae, формируют ветви, не входящие ни в одну из трех филогенетических групп. Позиция подсемейства Melanoplinae (группа II) осталась неизменной. В третьей группе остались только виды подсемейств Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae, а виды пяти подсемейств, Calliptaminae, Eyprepocnemidinae, Cyrthacanthacridinae, Catantopinae и Pezotettiginae занимают на древе позицию, промежуточную между группами II и III. При этом каждое из этих пяти подсемейств формирует отдельную ветвь.

Таким образом, использование в качестве филогенетического маркера последовательности трех митохондриальных генов уже недостаточно для достоверного анализа филогенетических взаимоотношений видов семейства Acrididae выше уровня подсемейств, как и в случае ITS2 маркера, но вполне достаточно для достоверного разделения подсемейств и установления взаимоотношения внутри подсемейств.

Наиболее информативным COI\COII\Cytb древо оказалось для анализа филогенетических взаимоотношений видов трех подсемейств: Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae. Виды этих подсемейств формируют четыре кластера внутри филогенетической группы III на COI\COII\Cytb древе, три из которых в точности соответствуют по видовому составу кластерам, обнаруженным на полном митохондриальном и ITS2 деревьях.

В **кластере 1** присутствует восемь ветвей, шесть из которых специфичны к определенной трибе: Oedipodini, Parapleurini, Eparcromiini, Chortophagini, Trilophidini и Acridini. Следует помнить, что виды триб Acridini и Truxalini, согласно существующей классификации, принадлежат подсемейству Acridinae, а не Oedipodinae, как остальные виды, входящие в состав кластера 1. Две последние ветви этого кластера содержат в своем составе виды из нескольких триб. Первая из них объединяет виды триб Locustini и Acrotlyini, а вторая – Bryodemini, Sphingonotini, Trimerotropini, Psinidiini и Arphiini. Это говорит о филогенетической близости видов внутри данных ветвей. Присутствие в последней ветви вида *Orinhippus tibetanus*, относящегося к подсемейству Gomphocerinae, по всей видимости является ошибкой определения этого вида как представителя подсемейству Gomphocerinae. Аналогичную позицию данный вид занимает и на древе других авторов (Gao et al., 2018).

**Кластер 2** представлен только видами подсемейства Gomphocerinae. Семь из десяти ветвей этого кластера специфичны к определенной трибе: Acrolophitini, Aulocarini, Chrysochraontini, Gomphocerini (*Bruneria brunnea*), Pacrini, Paropomalini и Ramburielini. Виды двух триб, Dociostaurini и Arcypterini, образуют общую ветвь, что говорит о филогенетической близости видов входящих в состав этих триб. Последние две ветви образованы видами триб Gomphocerini и Stenobothrini. Однако, среди видов трибы Gomphocerini присутствует *Euchortippus fusigeniculatus*, описанный как представитель трибы Chrysochraontini, а среди видов трибы Stenobothrini находятся два вида, *Chortippus*

*parallelus* и *Myrmeleotettix maculatus*, принадлежащие трибе Gomphocerini. Следует отметить, что присутствие *Chortippus parallelus* и *Myrmeleotettix maculatus* среди видов трибы Stenobothrini отмечено и другими авторами (Contreras et al., 2006; Nattier et al., 2011).

В кластере 3 в основном присутствуют виды подсемейства Acridinae. Однако, кроме этих видов в данном кластере расположены три вида рода *Ceracris* (Oedipodinae) и два вида из Gomphocerinae: *Gonista bicolor* и *Pnorisa angulata*. И если виды рода *Ceracris* формируют отдельную ветвь в кластере, то *Gonista bicolor* расположена в одной ветви с *Orthochtha dasycnemis*, а *Pnorisa angulata* в одной ветви с видами *Zacompsa festa* и *Comacris lamottei*, представляющих подсемейство Acridinae. Более того, в работе Гао и соавторов (Gao et al., 2018) показано, что виды рода *Ceracris* находятся в одной ветви с *Phlaeoba albonema* (Acridinae).

4 кластер включает в свой состав два вида, *Eutryxalis filata* и *Covasacris pallidinota*, представляющих подсемейство Acridinae и три вида из подсемейства Gomphocerinae, относящиеся к трибам Mermiriini и Orphulellini.

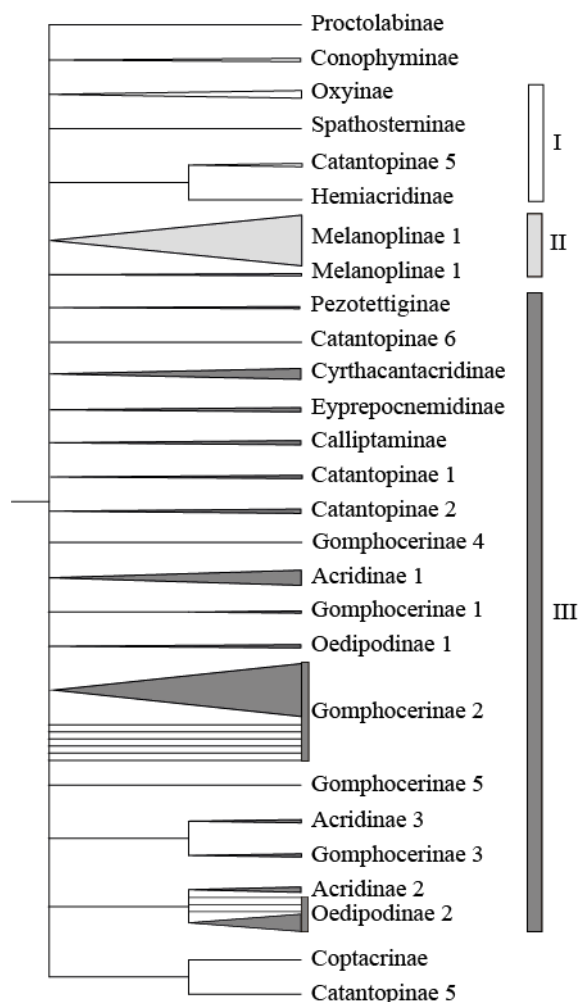
Наконец, еще четыре вида подсемейства Gomphocerinae (*Rhaphotittha levis*, *Rhammatocerus schistocercoides*, *Rhammatocerus pictus* и *Thyridota dispar*) не вошли в состав ни одного из четырех кластеров, а сформировали отдельные ветви внутри филогенетической ветви, образованной подсемействами Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae.

Как и на двух предыдущих деревьях, виды из трех подсемейств, Acridinae, Gomphocerinae и Catantopinae формируют несколько ветвей на COI\COII\Cytb древе. Подсемейство Catantopinae представлено на древе видами двух родов, *Xenocatantops* (Catantopini) и *Traulia* (Traulini), формирующих две независимые ветви.

### **Конкатенированные COI и COII последовательности**

Филогенетический анализ конкатенированных последовательностей митохондриальных генов COI и COII (Рисунок 12; Приложения 5, 6) позволил увеличить число изучаемых видов до 231, а подсемейств с 12 до 15 по сравнению с COI+COII+Cytb (Подсемейства Coptacrinae, Conophyminae и Proctolabinae) (Приложение 1). Конкатенированные последовательности COI+COII показали намного меньшую

разрешающую способность, чем COI+COII+Сутb в ходе филогенетического анализа. Группы видов, выделяющихся на предыдущих деревьях, не имеют собственных ветвей на COI+COII (Рисунки 9, 10, 11, 12; Приложения 3, 4, 5, 6). Более того, на COI+COII дереве не выделяется подгруппа А группы III.



**Рисунок 12.** Схематическое изображение филогенетического дерева, построенного на основе конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI и COII видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия (Приложения 5, 6). Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства. Арабскими цифрами пронумерованы разные ветви с видами, принадлежащие одному подсемейству, номера ветвей соответствуют аналогичным группам видов на рисунках 10-13.

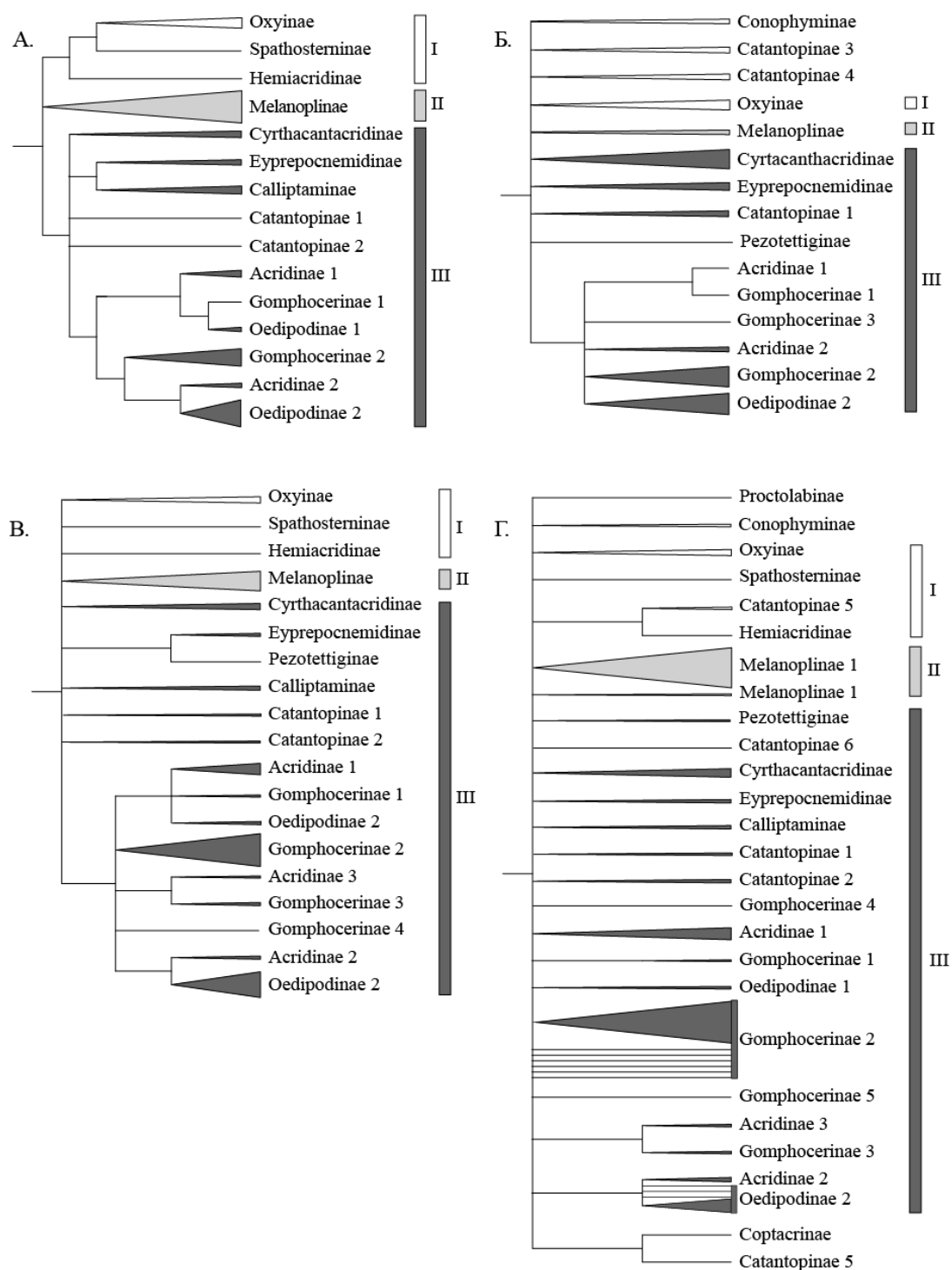
Для данного типа маркеров не была получена Байесовская статистическая поддержка, из-за низких значений. Также не была получена поддержка бутстрепа методом Booster. Ограничения, вносимые доверительными значениями данных статистических поддержек, в значительной степени уменьшают информативность дерева.

В результате анализа последовательностей COI+COII, на древе выделяется 40 линий видов семейства Acrididae. Подсемейства Conophyminae, Proctolabinae, Oxyinae, Spathosterninae, Hemiacridinae, Calliptaminae, Eupreopcnemidinae, Cyrtaanthacridinae и Pezotettiginae монофилетичны на данном древе, в то время как Melanoplinae, Catantopinae, Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae представляются полифилетичными. Наибольшую полифилию показывает подсемейство Gomphocerinae, разбиваясь на 16 линий (Приложение 6).

Несмотря на то, что некоторые линии в целом соответствуют линиям, представленным на предыдущих деревьях, разрешающая способность маркеров COI+COII не позволяет определить филогенетические взаимоотношения между подсемействами и трибами видов семейства Acrididae.

### **Молекулярная филогения семейства Acrididae**

В настоящее время в базах данных набралось большое количество нуклеотидных последовательностей различных видов семейства Acrididae, которые можно использовать для филогенетического анализа. Однако, попыток проведения такого анализа было немного (Charco et al., 2011; Huang et al., 2013; Gao et al., 2018; Song et al., 2018). Полученные в ходе работы данные, не претендуют на то, чтобы быть окончательной картиной, описывающей филогенетические взаимоотношения видов семейства Acrididae. Скорее – это попытка собрать вместе все имеющиеся данные и на их основе попытаться взглянуть на систематику видов семейства Acrididae с точки зрения молекулярной филогении. Согласно информации, расположенной на сайте ортоптерологического общества (Cigliano et al., 2019), в настоящее время семейство Acrididae включает в свой состав 26 подсемейств. Представители 15 подсемейств были исследованы в настоящей работе. Суммируя полученные данные по всем использованным маркерам кроме COI+COII, можно сделать вывод, что все исследованные виды, представляющие 12 подсемейств, образуют три филогенетические группы (Рисунок 13).



**Рисунок 13.** Схематичное изображение филогенетических деревьев, построенных на основе: А – полных кодирующих митохондриальных последовательностей; Б - ITS2 последовательностей; В - конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI, COII и CytB; Г - конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI и COII видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства. Арабскими цифрами пронумерованы разные ветви с видами, принадлежащие одному подсемейству, номера ветвей соответствуют аналогичным группам видов на рисунках 10-13.

Стоит отметить, что конкатенированные нуклеотидные последовательности COI+COII, по всей видимости, не обладают достаточным разрешением для качественного филогенетического анализа видов семейства Acrididae, и не добавляют достоверной информации касательно разделения видов на подсемейства и трибы.

### **Филогенетическая группа I**

Филогенетическая группа I объединяет виды трех подсемейств: Oxyinae, Hemiacridinae и Spathosterninae. Относительно видов подсемейств Hemiacridinae и Spathosterninae информация весьма скудная. В настоящей работе эти подсемейства были представлены только двумя видами: *Hieroglyphus tonkinensis* и *Spathosternum prasiniferum*. Однако, для обоих этих видов известны полные митохондриальные последовательности, что позволяет с уверенностью говорить о результатах проведенного филогенетического анализа. Все исследованные виды подсемейства Oxyinae представлены трибой Oxyini. На всех деревьях они формируют отдельную ветвь, тем самым показывая, что никаких разногласий с существующей классификацией не наблюдается. Однако, присутствие среди видов трибы Oxyini вида *Longchuanacris curvifurculus* требует пересмотра его принадлежности к подсемейству Catantopinae.

Митохондриальные COI и рибосомальные 18S и 28S последовательности *Spathosternum prasiniferum* были использованы ранее для филогенетического анализа, однако достоверно установить филогенетические взаимоотношения этого вида с другими видами акриид не удалось (Huang et al., 2013; Song et al., 2018). Позднее, при использовании полных митохондриальных последовательностей было установлено, что *Spathosternum prasiniferum* филогенетически близок к видам рода *Oxya* (Oxyinae) (Gao et al., 2018). Это подтверждает наши данные о вхождении видов подсемейств Spathosterninae и Oxyinae в отдельную филогенетическую группу. Подсемейство Spathosterninae весьма малочисленно (три рода и 12 видов), ареалы его видов очень узкие и представлены обособленными районами Африки и Юго-Восточной Азии. Исследованный вид распространен в Индии и в небольшой части Юго-Восточной Азии.

Подсемейство Hemiacridinae гораздо более многочисленно, однако для молекулярно-филогенетического анализа исследователями было использовано лишь несколько видов из этого подсемейства, используя 18S и 28S маркеры (Song et al., 2018). Три вида, представляющие роды *Pristocorypha*, *Leptacris* и *Kassongia* были расположены в



различных частях древа и один из них, *Pristocorypha sp.*, был расположен в одной ветви с видом *Oxya hyla* (Oxyinae).

### **Филогенетическая группа II**

В состав этой группы входит только одно подсемейство – Melanopliinae. Это подсемейство одно из самых крупных среди саранчовых, из шести известных триб в нашем анализе это подсемейство было представлено в основном видами трибы Podismini. Молекулярная филогения этого подсемейства изучена достаточно хорошо (Contreras et al., 2006; Chintauan-Marquier et al., 2011; Chintauan-Marquier et al., 2014; Woller et al., 2014). Полученные нами данные хорошо согласуются с существующей классификацией этого подсемейства и с данными по молекулярно-филогенетическому анализу, проведенному другими авторами относительно монофилетичности данного подсемейства.

### **Филогенетическая группа III**

Эта группа самая многочисленная, но в явном виде она присутствует только на полном митохондриальном древе. В ее состав входят виды из девяти подсемейств: Acridinae, Calliptaminae, Catantopinae, Conophyminae, Cyrtacanthacridinae, Euprepocnemidinae, Gomphocerinae, Oedipodinae и Pezotettiginae.

Три из этих подсемейств (Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae) формируют обособленную подгруппу (A) внутри филогенетической группы III, которая присутствует на всех деревьях, что говорит о филогенетической близости видов этих трех подсемейств. Внутри подгруппы присутствует четыре кластера, каждый из которых должен иметь статус отдельного подсемейства. Недавно проведенный молекулярно-филогенетический анализ представителей *Caelifera* на основе полных митохондриальных последовательностей показал, что три подсемейства, Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae, как и в нашем случае, образуют единую филогенетическую группу, содержащую три кластера (Gao et al., 2018; Song et al., 2018). Эти три кластера полностью соответствуют трем из четырех кластеров, обнаруженным в нашей работе. Четвертый кластер в данных работах отсутствует по причине отсутствия тех видов подсемейств Acridinae и Gomphocerinae, которые его образуют.

**Первый кластер** включает в свой состав представителей трех подсемейств: Oedipodinae, Acridinae и Gomphocerinae. Подавляющее большинство видов в этом кластере принадлежит подсемейству Oedipodinae. Стоит отметить, что, за исключением видов рода

*Ceracris*, в других кластерах виды подсемейства Oedipodinae отсутствуют. Подсемейство Oedipodinae насчитывает несколько сотен видов, распространенных на всех континентах, большая часть из которых входит в состав 16 триб. Из 13 исследованных нами триб, пять (Psinidiini, Arphiini, Hippiscini, Trimerotropini и Chortophagini) представляют Североамериканскую фауну, а остальные восемь (Trilophidini, Acrotylini, Locustini, Oedipodini, Sphingonotini, Bryodemini, Epacromiini и Parapleurini) – фауну Старого Света. Кроме видов подсемейства Oedipodinae, в этом кластере присутствуют представители подсемейств Acridinae и Gomphocerinae. Подсемейство Acridinae представлено видами триб Acridini и Truxalini, а подсемейство Gomphocerinae только одним видом – *Orinhippus tibetanus*. Согласно данным проведенного филогенетического анализа, *Orinhippus tibetanus* не должен быть представителем подсемейства Gomphocerinae. А вот присутствие видов рода *Acrida* близко к видам подсемейства Oedipodinae подтверждается и другими исследованиями (Charco et al., 2011; Gao et al., 2018).

На данный момент наиболее полный молекулярно-филогенетический анализ трех подсемейств, Acridinae, Oedipodinae и Gomphocerinae, был выполнен с использованием последовательностей четырех митохондриальных генов и 16S РНК (Charco et al., 2011). Относительно видов подсемейства Oedipodinae результаты настоящей работы во многом совпадают. Прежде всего, данное подсемейство – монофилетично. Чапко и Контрерас выделяют 7 клад внутри подсемейства Oedipodinae и 6 из них полностью соответствуют по видовому составу шести из восьми кладов, обнаруженных в настоящей работе.

Таким образом, ситуация с видами подсемейства Oedipodinae вполне определенная и она не противоречит существующей классификации, равно как и предыдущим результатам молекулярно-филогенетического анализа (Fries et al., 2007; Charco et al., 2011). Исключение составляют только виды рода *Ceracris*, которые были, по всей видимости, ошибочно включены в состав подсемейства Oedipodinae.

**Второй кластер** содержит в своем составе только виды подсемейства Gomphocerinae, входящие в состав 11 триб: Acrolophitini, Alaucobothrini, Arcypterini, Aulocarini, Chrysochraontini, Dociostaurini, Gomphocerini, Paropomalini, Pacrini, Ramburielini и Stenobothrini. Большинство видов этого кластера представляет Евроазиатскую фауну и на древе они собраны в одну ветвь. Стоит отметить, что североамериканские и африканские виды формируют отдельные независимые ветви внутри кластера. Аналогичные результаты

относительно видов данного кластера были получены другими исследователями на различных молекулярных маркерах (Bugrov et al., 2006; Contreras et al., 2006; Chapco et al., 2011; Nattier et al., 2011; Huang et al., 2013).

**Третий кластер** представлен большинством исследованных видов подсемейства Acridinae, тремя видами подсемейства Gomphocerinae (*Pnorisa angulata*, *Gonista africa*, *Gonista bicolor*) и тремя видами рода *Ceracris* (Oedipodinae). К сожалению, подсемейство Acridinae изучено молекулярно-генетическими методами относительно плохо. Фактически существует только одно исследование, в котором был проведен анализ видов трех вышеуказанных подсемейств (Chapco et al., 2011), с которым можно сравнивать результаты настоящей работы. Чапко с соавторами использовали похожий набор видов подсемейства Acridinae, что и в настоящей работе, однако данными авторами не было выявлено единого кластера подсемейства Acridinae, который появляется в данной работе. Следует отметить, что ареал обитания видов кластера III представлен либо Африкой, либо Юго-Восточной Азией. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что данный кластер стоит объединить в новое подсемейство Phlaeobinae, тем более что такое название уже употреблялось ранее для аналогичного состава видов (Uvarov, 1966). Таким образом, представители трибы Ochridini и вид *Pnorisa angulata* (Gomphocerinae), а также виды рода *Ceracris* (Oedipodinae) должны быть отнесены к подсемейству Acridinae. Тем более, что все виды, входящие в этот кластер, имеют общий ареал обитания.

Последний кластер представлен пятью видами родов *Achurum* (Gomphocerinae), *Orphulella* (Gomphocerinae), *Dichromorpha* (Gomphocerinae), *Covasacris* (Acridinae) и *Eutryxalis* (Acridinae). Основываясь на результатах филогенетического анализа, можно сделать предположение, что все виды данного кластера должны входить в состав отдельной филогенетической группы в ранге подсемейства. Ареал распространения видов этой группы ограничен американским континентом. Этот кластер полностью соответствует кластеру «Е», объединяющему виды родов *Metaleptea*, *Covasacris*, *Eutryxalis* (подсемейства Acridinae) и родов *Achurum*, *Orphulella*, *Dichromorpha*, *Orphulina*, *Amblytropidia* (подсемейства Gomphocerinae) (Chapco et al., 2011).

Таксономический статус пяти видов подсемейства Gomphocerinae (*Rhammatocerus schistocercoides*, *Rhammatocerus pictus*, *Rhaphotittha levis*, *Thyridota dispar* и *Boopedon nubilum*) в данном анализе установить не удалось. Однако, не один из этих видов

не входит в состав ни одного из четырех вышеописанных кластеров. В работе У. Чапко и Д. Контрерас (Charco et al., 2011) было исследовано большее количество представителей подсемейства Gomphocerinae, которые были разбиты на клады. *Thyridota dispar* и *Rhaphotittha levis* вместе с представителями родов *Amesotropis*, *Stenohippus* (статус трибы не определен) и *Ochrilidia* (Ochrilidini), представляющими африканскую фауну, формируют “clade D”, а виды рода *Rhammatocerus* вместе видами родов *Sinipta* (Amblypropidiini), *Staurorhectus* (Compsacriini), *Parapellopedon*, *Jagomphocerus* (Scillini), формируют “clade F”. Обе эти группы видов могут претендовать на отдельный систематический статус, ранг которого пока установить невозможно.

Пять из шести оставшихся подсемейств филогенетической группы III (Calliptaminae, Conophyminae, Cyrtacanthacridinae, Eupreopcnemidinae и Pezotettiginae) формируют отдельные кластеры, каждый из которых соответствует отдельному подсемейству. Филогенетические взаимоотношения видов внутри подсемейств удалось установить только для подсемейства Cyrtacanthacridinae, поскольку остальные подсемейства представлены лишь небольшим количеством видов. На полном митохондриальном древе, подсемейства Eupreopcnemidinae и Calliptaminae образуют общую ветвь, а на COI\COII\Cytb древе общую ветвь образуют подсемейства Eupreopcnemidinae и Pezotettiginae. В работе Чапко (Charco, 2013) при использовании митохондриальных маркеров также было показано, что Eupreopcnemidinae и Pezotettiginae расположены в одной ветви. Поэтому, можно сделать предположение, что три подсемейства, Calliptaminae, Eupreopcnemidinae и Pezotettiginae филогенетически близки друг другу и могут быть объединены в подгруппу В. Тем более, что близость видов подсемейств Calliptaminae и Eupreopcnemidinae подтверждается также и морфологическими данными (Li et al., 2011).

Подсемейство Catantopinae одно из наиболее сложных в семействе Acrididae. В его состав входят около двух десятков триб и несколько десятков родов, для которых принадлежность к какой-либо трибе не определена. В данном анализе подсемейство Catantopinae представлено трибами Cantotopini (роды *Stenocatantops*, *Diabolocantantops*, *Xenocatantops*) и Traulini на митохондриальных деревьях, и видами трибы Cantotopini (роды *Xenocatantops*, *Phaulacridium* и *Sigaus*), а также родом *Arminda* на ITS2 древе.

На митохондриальных деревьях исследованные виды подсемейства Catantopinae образуют две независимые ветви (Cantotopini и Traulini), а на ITS2 древе – три. Филогенетический анализ видов подсемейства Catantopinae, проведенный другими авторами, совершенно однозначно показывает на то, что виды трибы Traulini и родов *Catantops*, *Stenocatantops*, *Diabolocatantops*, *Xenocatantops* (триба Catantopini) представляют две независимые группы видов, каждая из которых может иметь систематический ранг на уровне подсемейства (Charco, 2013; Huang et al., 2013; Gao et al., 2018; Song et al., 2018). Австралийские представители трибы Catantopini формируют независимые от двух вышеуказанных групп видов подсемейства Catantopinae ветви на ITS2 (*Phaulacridium*, *Sigaus*), 18S и 28S (*Rusurplia*, *Porraxia*) (Song et al., 2018) и митохондриальном (*Goniaea*, *Coryphistes*, *Theomolphus*) (Leavitt et al., 2013) деревьях.

На этом филогенетическое разнообразие видов подсемейства Catantopinae не заканчивается. *Toacris yaoshanensis*, *Urnisiella rubropunctata* представляющие трибы Tauchirini и Urnisiellini, соответственно, а также виды родов *Menglacris*, *Meltripata*, *Kinangora* формируют отдельные ветви на филогенетических деревьях (Huang et al., 2013; Song et al., 2018). Приведенные выше результаты филогенетических анализов говорят о том, что все вышеперечисленные группы видов подсемейства Catantopinae могут претендовать на отдельный таксономический статус вплоть до ранга подсемейства. Очевидно, что для выяснения филогенетических взаимоотношений видов подсемейства Catantopinae и установления их систематического статуса необходимо провести более расширенное исследование.

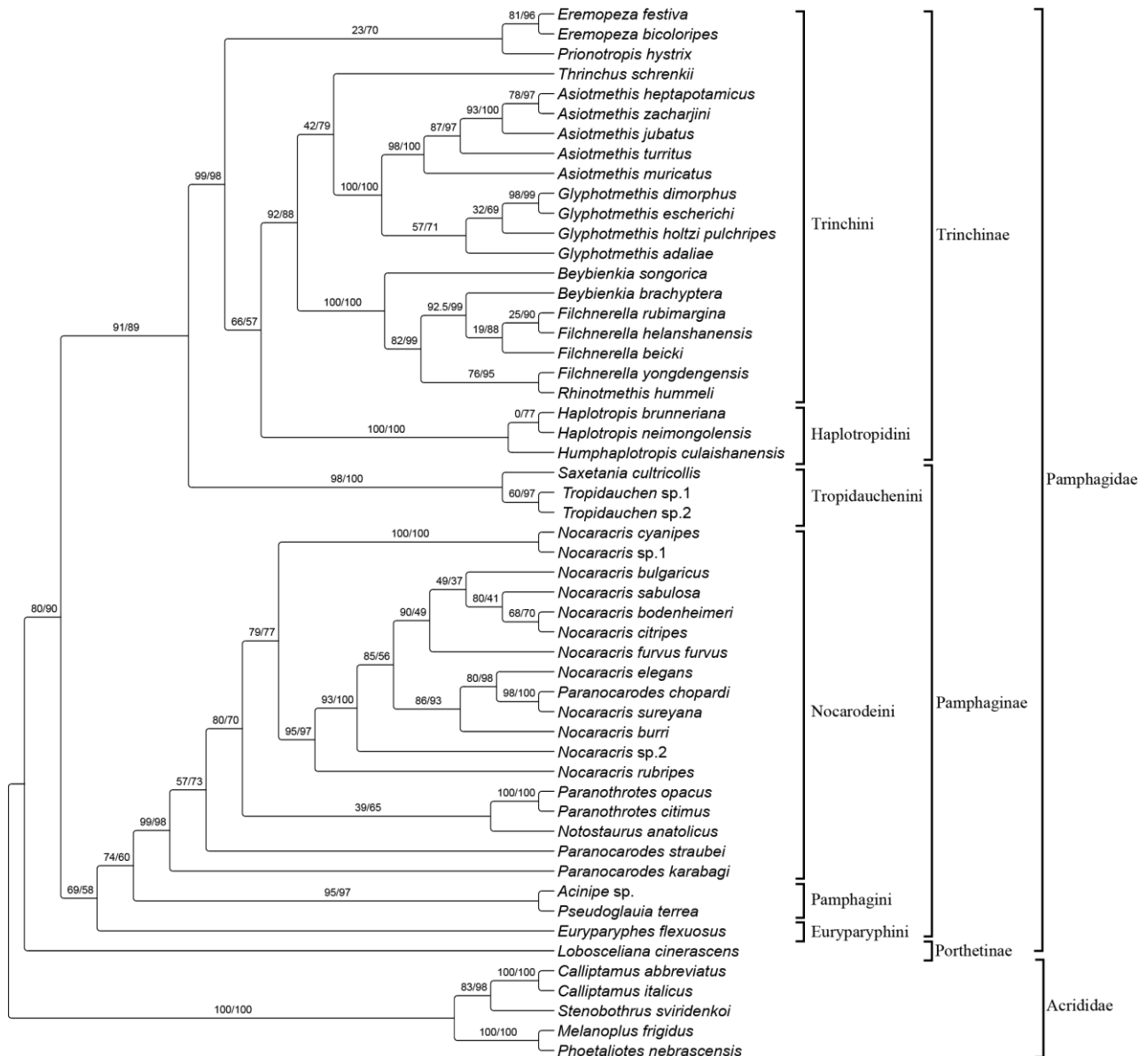
Таким образом, настоящий анализ нуклеотидных последовательностей видов семейства Acrididae показал наиболее проблемные места в систематике данного семейства: полифилию трех подсемейств, ранее считавшихся монофилетичными (Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae). Согласно результатам данного анализа, данные три подсемейства могут быть разделены на пять групп на уровне подсемейств.

### **Филогенетический анализ видов семейства Pamphagidae**

#### ***Конкатенированные COI и COII последовательности***

На рисунке 14 представлено древо, построенное на основе конкатенированных последовательностей для 48 видов саранчовых (Приложение 2), принадлежащих трем подсемействам (Pamphaginae, Thrinchinae и Porthetinae), причем Porthetinae представлено

всего одним видом - *Lobosceliana cinerascens*. На дереве можно выделить две больших группы видов, соответствующих подсемейству Thrinchinae и трибе Nocarodeini подсемейства Pamphaginae (линия I и III), а также три отдельные ветви с небольшим количеством видов соответствующие трибам Tropidauchenini (*Tropidauchen* sp., *Saxetania pravdini*) (линия II), Pamphagini (*Acinipe* sp. и *Pseudoglaucia terrea*) (линия IV) и Euryaryphini (*Euryaryphes flexuosus*) подсемейства Pamphaginae.



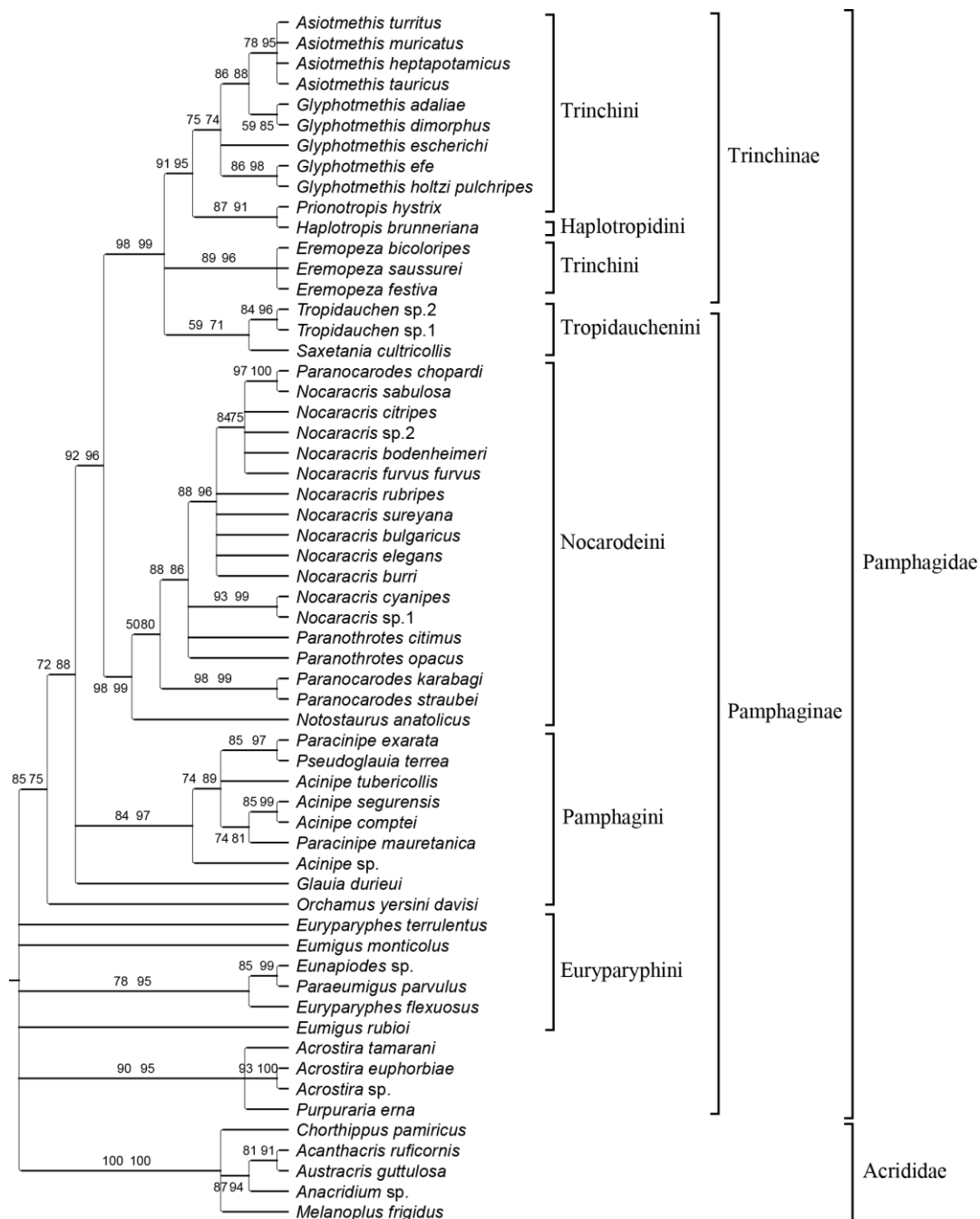
**Рисунок 14.** Филогенетическое дерево, построенное на основе конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI и COII видов семейства Pamphagidae с помощью методов максимального правдоподобия. Коэффициенты поддержки обозначены как SH-Like aLTR/UfBoot. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства.

Вид *Lobosceliana cinerascens* располагается отдельно от остальных видов семейства Pamphagidae. Стоит отметить, что виды трибы Tropidauchenini образуют единую ветвь с видами подсемейства Thrinchinae, с коэффициентом поддержки на нижней границе достоверности (91/89).

В группе линии I виды явно выделяются в две трибы - Thrinchini и Harlotropidini. Исключением являются роды Eremopezsa и Prionotropis, которые образуют собственные ветви, отдельно от остальных видов трибы Thrinchini. Стоит отметить, что ветвь с большинством видов Thrinchini имеет коэффициентом поддержки на нижней границе достоверности (92/88). Группа линии II состоит исключительно из видов трибы Noscarodeini с высоким коэффициентом поддержки (99/98).

### ***ITS2 последовательности***

Для построения филогенетического дерева на основе ITS2 последовательностей было использовано 58 видов семейства Pamphagidae из двух подсемейств, Pamphaginae и Thrinchinae (Рисунок 15). Топология данного дерева, в целом, соответствует топологии дерева, построенного на основе митохондриальных последовательностей. Однако помимо четырех основных линий, на данном дереве появляется дополнительный кластер, соответствующие роду *Acrostira* (линия V). Также на дереве присутствует ветвь, образованная двумя видами, *Paraeumigus parvulus* и *Eunapiodes* sp. трибы Euryaryphini (линия VI). Шесть видов не образуют достоверных ветвей с другими видами: *Glauia durieui* (Pamphagini), *Orchamus yersini davisii* (Pamphagini), *Eumigus monticola*, *Eumigus rubioi* (Pamphagini), *Euryaryphes flexuosus* (Euryaryphini) и *Euryaryphes terrulentus* (Euryaryphini).



**Рисунок 15.** Филогенетическое древо, построенное на основе последовательностей участка ITS2 видов семейства Pamphagidae с помощью методов максимального правдоподобия. Коэффициенты поддержки обозначены как SH-Like aLTR/UfBoot. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства.

Как и в случае с митохондриальным деревом, в группе линии I выделяются две трибы подсемейства Thrinchinae (Thrinchini и Haplotropidini), и роды *Eremopeza* и *Prionotropis* имеют отдельные ветви с высокими коэффициентами поддержки. Все ключевые ветви имеют высокие коэффициенты поддержки, подтверждая позиции ветвей



на митохондриальном дереве. Стоит отметить, что ветвь с трибой *Tropidauchenini* (*Pamphaginae*) (линия II) и подсемейством *Thrinchinae* (линия I) также имеет высокий коэффициент поддержки. Группа линии III состоит исключительно из видов трибы *Nocarodeini* и имеет высокий коэффициент поддержки (98/99).

### Молекулярная филогения семейства *Pamphagidae*

В базе данных NCBI собрано значительно меньше нуклеотидных последовательности видов семейства *Pamphagidae* чем последовательностей *Acrididae*, и соответствие видов по последовательностям можно провести далеко не для всех. Преобладающими маркерами являются COII и COI последовательности, а также ITS2. Согласно OSF (Cigliano et al., 2019), семейство *Pamphagidae* разделено на пять подсемейств: *Akicerinae*, *Echinotropinae*, *Pamphaginae*, *Porthetinae* и *Thrinchinae*. В проведенном анализе на основе митохондриальных и рибосомных маркеров были использованы представители трех подсемейств (*Pamphaginae*, *Porthetinae* и *Thrinchinae*), которые разделились на шесть линий, две из которых выделяются только на ITS2 дереве (линия V и VI), и семь ветвей, соответствующих отдельным видам.

**Линия I:** Все виды данной группы входят в состав подсемейства *Thrinchinae*. Более того, согласно результатам анализа данной работы, подсемейство *Thrinchinae* монофилетично и разделяется на трибы *Thrinchini* и *Harlotropidini*. Однако, два рода трибы *Thrinchini* (*Eremopezsa* и *Prionotropis*) выходят из общей ветви с остальными видами данной трибы. Данный факт говорит о том, что виды данных родов могут принадлежать другой, еще не описанной трибе. Также, результаты подтверждают гипотезу о том, что триба *Harlotropidini* находится в подсемействе *Thrinchinae*, а не в подсемействе *Pamphaginae* (Sukhikh et al., 2019).

**Линия II:** Данная линия представлена тремя видами трибы *Tropidauchenini* (*Pamphaginae*). Близкое положение к представителям другого подсемейства (*Thrinchini*), с достоверным коэффициентом поддержки, показывает разногласие результатов данной работы с общепринятой систематикой OSF. В работе Д. Чжана, на основании морфологических признаков (Zhang et al., 2003), данный таксон был выделен в ранг подсемейства (*Tropidaucheninae*). Таким образом, иерархическое положение данного

таксона имеет доказательства как на основе молекулярных данных, так и морфологических признаков.

**Линия III:** Группа линии III представлена исключительно видами трибы Nocarodeini (Pamphaginae). По положению других видов подсемейства Pamphaginae относительно данной трибы можно предположить, что Nocarodeini не является трибой Pamphaginae, а отдельным подсемейством. Результаты исследования морфологических признаков китайских видов памфагид подтверждают данную гипотезу (Zhang et al., 2003). Однако, так как количество видов других триб подсемейства Pamphaginae на митохондриальном дереве невелико, а разрешающая способность ITS2 дерева не позволяет с уверенностью говорить о разделении подсемейств, то достоверное выделение трибы Nocarodeini в отдельное подсемейство потребует дополнительного анализа.

**Линия IV:** Четвертая линия представлена видами трибы Pamphagini, роды *Acinipe*, *Paracinipe* и *Pseudoglaucia*. Другие виды данной трибы представлены только на ITS2 дереве, и не входят в данную линию. Это можно объяснить низкой разрешающей способностью данного маркера для трибы Pamphagini.

**Линия V:** Представлена только на ITS2 дереве, и образована двумя видами, *Paraeumigus parvulus* и *Eunapiodes* sp.

**Линия VI:** Данная линия включает в свой состав виды родов *Acrostira* и *Purpuraria* и выделяется только на ITS2 дереве. Стоит отметить, что данные роды не входят в состав ни одной трибы по классификации OSF.

На основании только ITS2 последовательностей изучить филогенетические взаимоотношения между линиями V и VI, а также отдельных видов, не представляется возможным, особенно учитывая относительно небольшой размер маркера (~340 п.н.). Для установления их ранга и эволюционных взаимоотношений необходимо изучить более консервативные нуклеотидные последовательности данных видов.

Сложности в изучении филогении Pamphagidae возникают из-за проблем с получением материала, так как значительная часть видов обитает в труднодоступных местах. Однако анализ даже такого ограниченного количества последовательностей позволяет обнаружить проблемные места в систематике семейства Pamphagidae и предложить новые варианты систематики для решения данных проблем.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный филогенетический анализ и привлеченные данные других исследований позволили сделать следующие выводы и предположения относительно филогении и систематики видов семейства Acrididae, которые также проиллюстрированы на Рисунке 16:

1. Виды из 13 исследованных подсемейств семейства Acrididae представляют собой монофилетичную группу.
2. 12 исследованных подсемейств входят в состав трех филогенетических групп:
  - a) Охуinae, Hemiacridinae и Spathosterninae;
  - b) Melanoplinae;
  - c) Acridinae, Calliptaminae, Catantopinae, Cyrtacanthacridinae, Eupreopcnemidinae, Gomphocerinae, Oedipodinae, Pezotettiginae;
3. Внутри филогенетической группы III очевидно выделяется подгруппа А, объединяющая три подсемейства: Acridinae, Gomphocerinae, Oedipodinae.
4. Внутри филогенетической группы III предположительно выделяется подгруппа В, объединяющая три подсемейства: Calliptaminae, Eupreopcnemidinae и Pezotettiginae.
5. Внутри подгруппы А расположены пять очевидных кластеров, каждый из которых может соответствовать отдельному подсемейству:
  - a) Oedipodinae;
  - b) Acridinae , трибы Acridini и Truxalini;
  - c) Gomphocerinae (распространённые на территории Евразии и Северной Америки);
  - d) Acridinae, включая род *Ceracris* (Oedipodinae) и роды *Gonista* и *Pnorisa* (Gomphocerinae). Ареал обитания всех видов этого кластера – Африка и Юго-Восточная Азия;

е) Acridinae и Gomphocerinae, распространённые в Америке. Роды *Metaleptea*, *Covasacris*, *Eutryxalis* (подсемейство Acridinae) и роды *Achurum*, *Orphulella*, *Dichromorpha*, *Orphulina*, *Amblytropidia* (подсемейство Gomphocerinae);

6. Внутри подгруппы А расположены два предположительных кластера:

а) Виды подсемейства Gomphocerinae (Африка): роды *Thyridota*, *Rhaphotittha*, *Amesotropis*, *Stenohippus* и *Ochrilidia*;

б) Виды подсемейства Gomphocerinae (Южная Америка): роды *Rhammatocerus*, *Sinipta*, *Staurorhectus*, *Parapellopedon*, *Jagomphocerus*;

7. Все исследованные виды подсемейства Catantopinae входят в состав филогенетической группы III и образуют в ней, как минимум, четыре независимых ветви (и возможная пятая ветвь, представленная в работе Чапко видом *Kinangora sp*), взаимоотношения между которыми и с представителями других подсемейств на данный момент достоверно установить невозможно.

В результате филогенетического анализа видов семейства Pamphagidae были сделаны следующие выводы и предположения:

1. Исследованные виды семейства Pamphagidae образуют монофилетичную группу.

2. Роды трибы Thrinchini (Thrinchinae) не образуют единой группы. *Eremopeza* и *Prionotropis* располагаются отдельно от остальных представителей трибы.

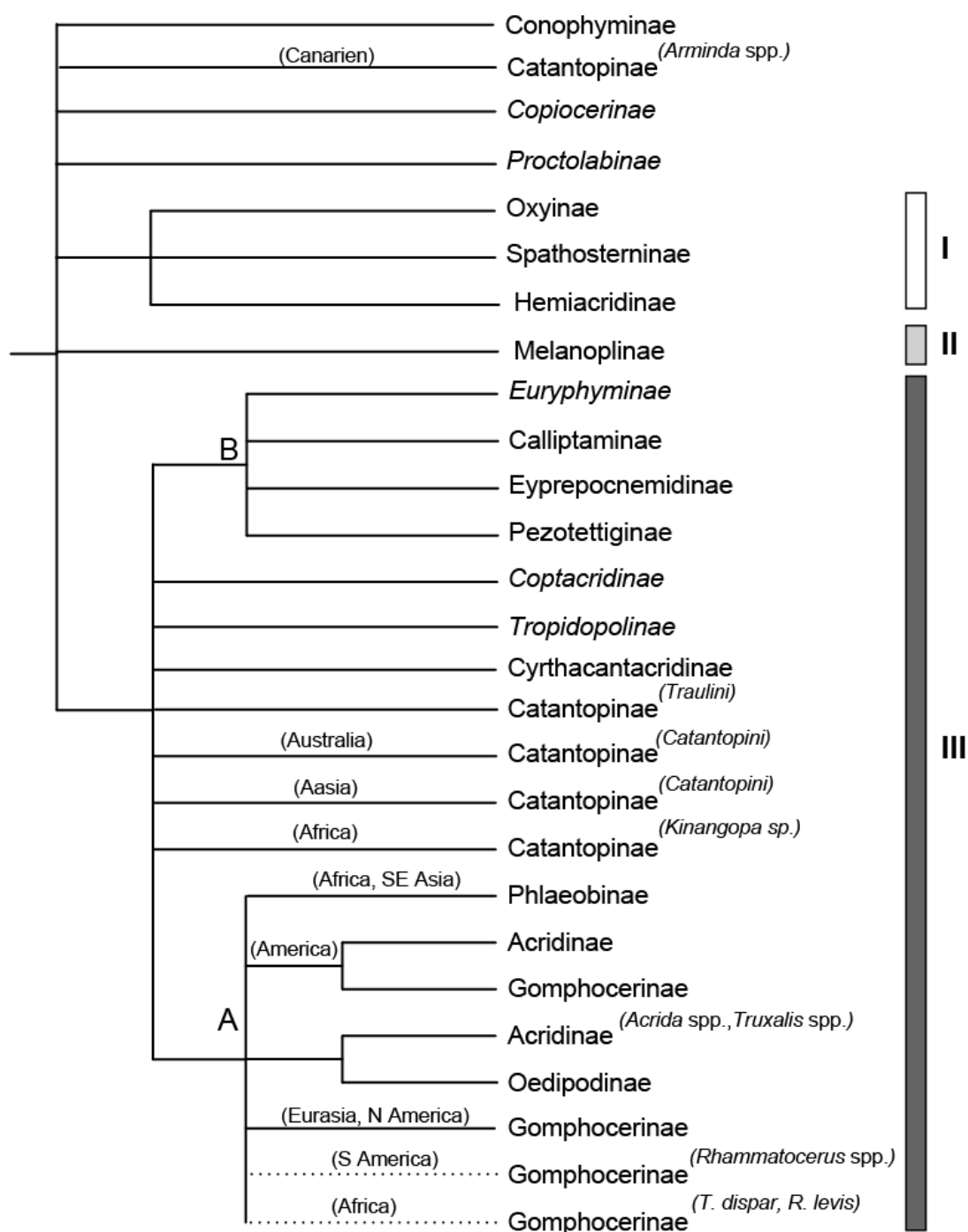
3. Триба Naplotropidini входит в состав семейства Thrinchinae, а не Pamphaginae.

4. Подсемейство Pamphaginae не монофилетично. Как минимум одна триба (Tropidauchenini) не входит в состав подсемейства и может иметь статус отдельного подсемейства.

5. Триба Nosarodeini может иметь статус отдельного подсемейства.

В результате филогенетического анализа конкатенированных нуклеотидных последовательностей генов COI и COII видов семейства Acrididae было установлено, что данный набор молекулярных маркеров не подходит для изучения взаимоотношений между

таксонами ранга выше рода видов семейства *Acrididae*, так как обладает низким разрешением. В то же время, филогенетический анализ конкатенированных нуклеотидных последовательностей генов COI и COII видов семейства *Pamphagidae* продемонстрировал достоверное разделение подсемейств. Данный факт говорит о том, что использованные в настоящей работе виды семейства *Pamphagidae* исторически образовали единую ветвь позже, чем виды семейства *Acrididae*. Это подтверждается работой Сонга с соавторами (Song et al., 2015), по результатам которой виды семейства *Pamphagidae* образовали группу примерно 40 миллионов лет назад, а *Acrididae* 73. Таким образом, можно предположить, что набор молекулярных маркеров COI и COII позволяет разрешить филогенетические взаимоотношения между видами, общий предок которых образовался приблизительно от 40 миллионов лет назад и позднее.



**Рисунок 16.** Взаимоотношения видов семейства Acrididae в виде схемы, основанной на трех филогенетических деревьях (Полные кодирующие митохондриальные нуклеотидные последовательности, конкатенированные COI+COII+Cytb нуклеотидные последовательности и ITS2 последовательности). Филогенетические группы обозначены серыми блоками с правой стороны древа, и пронумерованы римскими цифрами. А и В – подгруппы в филогенетической группе III. Пунктирными линиями обозначены предположительные ветви. С левой стороны в скобках обозначены ареалы распространения видов полифилетических подсемейств. С правой стороны в скобках отмечены основные виды, входящие в состав данной ветви.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что конкатенированные нуклеотидные последовательности митохондриальных генов COI, COII и CytB могут с успехом использоваться для разрешения филогенетических взаимоотношений между подсемействами семейства Acrididae.

2. В результате проведенного филогенетического анализа выявлены три основные группы видов 12 подсемейств семейства Acrididae: I (Oxyinae, Hemiacridinae и Spathosterninae), II (Melanoplinae), III (Acridinae, Calliptaminae, Catantopinae, Cyrtaacanthacridinae, Eupreopnemidinae, Gomphocerinae, Oedipodinae, Pezotettiginae).

3. Показано, что виды подсемейств Acridinae, Gomphocerinae и Oedipodinae объединяются в единую подгруппу в группе III, и образуют внутри данной подгруппы пять независимых таксономических групп на уровне отдельных подсемейств.

4. Достоверно установлено, что виды трех подсемейств (Pamphaginae, Thrinchinae и Porthetinae) семейства Pamphagidae, ранее имеющего спорное таксономическое положение, образуют единую монофилетичную группу.

5. Впервые был проведен комплексный филогенетический анализ видов семейства Pamphagidae и установлено, что трибы Nocarodeini и Tropidauchenini могут иметь статус отдельных подсемейств, а триба Harlotropidini, ранее считавшаяся частью подсемейства Pamphaginae, входит в состав подсемейства Thrinchinae.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Akaike H. A new look at the statistical model identification // IEEE Trans. Automat. Contr. 1974. T. 19. № 6. С. 716–723.
2. Amedegnato C., Chapco W., Litzenger G. Out of South America ? Additional evidence for a southern origin of Melanopline grasshoppers // Mol. Phylogenet. Evol. 2003. T. 29. С. 115–119.
3. Amédégnato C., Descamps M. History and phylogeny of the neotropical acridid fauna // Metaleptea. 1979. T. 2. С. 1–10.
4. Anisimova M., Gascuel O. Approximate Likelihood-Ratio Test for Branches : A Fast , Accurate , and Powerful Alternative // 2006. T. 55. № 4. С. 539–552.
5. Bazelet C., Samways M. Habitat Quality of Grassland Fragments Affects Dispersal Ability of a Mobile Grasshopper, *Ornithacris cyanea* (Orthoptera: Acrididae) // African Entomol. 2014. T. 22. С. 714–725.
6. Belovsky G.E., Slade J.B. The Role of Vertebrate and Invertebrate Predators in a Grasshopper Community // Oikos. 1993. T. 68. № 2. С. 193–201.
7. Benson D.A. et al. GenBank // Nucleic Acids Res. 2018. T. 46. № D1. С. D41–D47.
8. Bownes A., King A.J. Pre-release studies and release of the grasshopper *Cornops aquaticum* in South Africa - a new biological control agent for water hyacinth, *Eichhornia crassipes*. 2011.
9. Brady A., Salzberg S. Polymorphism and Genomic Structure of the A+T-Rich Region of Mitochondrial DNA in the Oriental Mole Cricket, *Gryllotalpa Orientalis* (Orthoptera: Gryllotalpidae) // Nat. Publ. Gr. 2011. T. 8. № 5. С. 367.
10. Brown W.M., George M., Wilson A.C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA // 1979. T. 76. № 4. С. 1967–1971.
11. Brunner von Wattenwyl K. Révision du système des orthoptères et description des espèces rapportées. : Genova, Tip. del R. Istituto sordo-muti, 1893.
12. Bugrov A. et al. Molecular phylogeny of Palaearctic genera of Gomphocerinae grasshoppers (Orthoptera, Acrididae) // Syst. Entomol. 2006. T. 31. № 2. С. 362–368.



13. Carbonell C. Taxonomy and a Study of the Phallic Complex, including Its Muscles, of *Paulinia acuminata* (Acrididae, Pauliniinae) and *Marellia remipes* (Acrididae, incertae sedis) // J. Orthoptera Res. 2000. T. 22. C. 161.
14. Carbonell C.S. Origin, evolution, and distribution of the Neotropical Acridomorph Fauna (Orthoptera): a preliminary hypothesis // Rev. la Soc. Entomológica Argentina. 1977. T. 36. № 1–4. C. 153–175.
15. Castresana J. Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis // 2000. C. 540–552.
16. Cavalli-Sforza L.L., Edwards A.W. Phylogenetic analysis. Models and estimation procedures // Am. J. Hum. Genet. 1967. T. 19. № 3 Pt 1. C. 233–257.
17. Chapco W. A Note on the Molecular Phylogeny of a Small Sample of Catantopine Grasshoppers // J. Orthoptera Res. 2013. T. 22. № 1. C. 15–20.
18. Chapco W., Contreras D. Subfamilies Acridinae, Gomphocerinae and Oedipodinae are “Fuzzy Sets”: A Proposal for a Common African Origin // J. Orthoptera Res. 2011. T. 20. № 2. C. 173–190.
19. Chapco W., Kuperus W., Litzemberger G. Molecular Phylogeny of Melanopline Grasshoppers (Orthoptera: Acrididae): The Genus *Melanoplus* // Ann. Entomol. Soc. Am. 1999. T. 92. C. 617–623.
20. Chintauan-Marquier I.C. et al. Evolutionary history and taxonomy of a short-horned grasshopper subfamily: The Melanoplineae (Orthoptera: Acrididae) // Mol. Phylogenet. Evol. 2011. T. 58. № 1. C. 22–32.
21. Chintauan-Marquier I.C. et al. Inside the Melanoplineae: New molecular evidence for the evolutionary history of the Eurasian Podismini (Orthoptera: Acrididae) // Mol. Phylogenet. Evol. 2014. T. 71. № 1. C. 224–233.
22. Cigliano M., Pocco M. Grasshoppers of the Andes: new Melanoplineae and Gomphocerinae taxa (Insecta, Orthoptera, Acrididae) from Huascarán National Park and Callejón de Huaylas, Ancash, Peru // Zoosystema. 2011. T. 36. C. 523–544.
23. Cigliano M.M. et al. Orthoptera Species File // 2019.

24. Coetzee J. et al. A Review of the Biological Control Programmes on *Eichhornia crassipes* (C.Mart.) Solms (Pontederiaceae), *Salvinia molesta* D.S.Mitch. (Salviniaceae), *Pistia stratiotes* L. (Araceae), *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdc. (Haloragaceae) and *Azolla filiculoides* // African Entomol. 2011. C. 451–468.
25. Comstock J.H. An introduction to entomology. Ithaca, New York, : The Comstock publishing co., inc., 1933. Вып. Rev. ed.
26. Contreras D., Chapco W. Molecular phylogenetic evidence for multiple dispersal events in gomphocerine grasshoppers // J. Orthoptera Res. 2006. T. 15. № 1. C. 91–98.
27. Cruickshank R.H. Molecular markers for the phylogenetics of mites and ticks // 2002. C. 3–14.
28. Cullen D.A. et al. Chapter Seven - From Molecules to Management: Mechanisms and Consequences of Locust Phase Polyphenism // Insect Epigenetics / под ред. H.B.T.-A. in I.P. Verlinden. : Academic Press, 2017. C. 167–285.
29. Darwin C. Origin of Species. London: , 1859.
30. Davison D., Darlington J.P.E.C., Cook C.E. Species-level systematics of some Kenyan termites of the genus *Odontotermes* (Termitidae, Macrotermitinae) using mitochondrial DNA, morphology, and behaviour // Insectes Soc. 2001. T. 48. № 2. C. 138–143.
31. Desalle R. The phylogenetic relationships of flies in the family drosophilidae deduced from mtDNA sequences // Mol. Phylogenet. Evol. 1992. T. 1. № 1. C. 31–40.
32. Dirsh V. I. Classification of the Acridomorphoid insects. Oxford: E.W. Classey LTD, 1975. 170 c.
33. Dirsh V.M. A preliminary revision of the families and subfamilies of Acridoidea (Orthoptera, Insecta) // Bull. Br. Museum Nat. Hist. 1961. T. 10. C. 351–419.
34. Dirsh V.M. Genital Organs in Acridomorpha (Insecta) as Taxonomic Character // J. Zool. Syst. Evol. Res. 1973. T. 11. № 1. C. 133–154.
35. Eades D.C. Evolutionary relationships of phallic structures of Acridomorpha ( Orthoptera ) // 2000. T. 9. № 9. C. 181–210.
36. Edgar R.C. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput

// Nucleic Acids Res. 2004. T. 32. № 5. C. 1792–1797.

37. Edwards S. V. Is a new and general theory of molecular systematics emerging? // 2009. C. 1–19.

38. Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach // J. Mol. Evol. 1981. T. 17. № 6. C. 368–376.

39. Felsenstein J. Confidence Limits on Phylogenies : An Approach Using the Bootstrap // Evolution (N. Y). 1985. T. 39. № 4. C. 783–791.

40. Fenn J.D. et al. Molecular Phylogenetics and Evolution A preliminary mitochondrial genome phylogeny of Orthoptera ( Insecta ) and approaches to maximizing phylogenetic signal found within mitochondrial genome data // Mol. Phylogenet. Evol. 2008. T. 49. № 1. C. 59–68.

41. Fenn J.D., Whiting M.F. The complete mitochondrial genome sequence of the Mormon cricket (*Anabrus simplex* : Tettigoniidae : Orthoptera) and an analysis of control region variability // 2007. C. 239–252.

42. Flook P.K., Rowell C.H.F. The Phylogeny of the Caelifera (Insecta , Orthoptera) as Deduced from mtrRNA Gene Sequences // Mol. Phylogenet. Evol. 1997. T. 8. № 1. C. 89–103.

43. Folmer O. et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 1994. T. 3. C. 294–299.

44. Fries M., Chapco W., Contreras D. A molecular phylogenetic analysis of the Oedipodinae and their intercontinental relationships // J. Orthoptera Res. 2007. T. 16. № 2. C. 115–125.

45. Galtier N., Gouy M. Inferring phylogenies from DNA sequences of unequal base compositions // 1995. T. 92. № November. C. 11317–11321.

46. Gandar M. V. The dynamics and trophic ecology of grasshoppers (Acridoidea) in a South African savanna // Oecologia. 1982. T. 54. № 3. C. 370–378.

47. Gao S., Chen J.J., Jiang G.F. Complete mitochondrial genome of bamboo grasshopper, *Ceracris fasciata*, and the phylogenetic analyses and divergence time estimation of Caelifera (Orthoptera) // Bull. Entomol. Res. 2018. T. 108. № 3. C. 321–336.

48. Gebeyehu S., Samways M.J. Grasshopper assemblage response to a restored national park

- (Mountain Zebra National Park, South Africa) // *Biodivers. Conserv.* 2002. T. 11. № 2. C. 283–304.
49. Gillon Y. The invertebrates of the grass layer // *Ecosystems of the World 13: tropical savannas.* / под ред. F. Bourliere. Amsterdam: , 1983. C. 289–311.
50. Gray R.D. Language Phylogenies Reveal Expansion Pulses and Pauses in Pacific Settlement // 2009. № February.
51. Greca M. La. Biogeography of the palaeartic Pamphagidae // *Mem. della Soc. Entomol. Ital.* 1998. T. 77. C. 123–159.
52. Green R.E. et al. A Draft Sequence of the Neandertal Genome // 2010. № May.
53. Grenfell B.T. et al. Unifying the Epidemiological and Evolutionary Dynamics of Pathogens // 2004. T. 327. № 2004.
54. Guindon S., Dufayard J., Lefort V. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies : Assessing the Performance of PhyML 3 . 0 // 2010. C. 1–37.
55. Guo Z.-W., Li H.-C., Gan Y.-L. Grasshopper (Orthoptera: Acrididae) biodiversity and grassland ecosystems // *Insect Sci.* 2006. T. 13. № 3. C. 221–227.
56. Gupta V.K. The Locust and Grasshopper Agricultural Manual 1982 // *Orient. Insects.* 1983. T. 17. № 1. C. 78–126.
57. Heifetz Y., Applebaum S.W., Popov G.B. Phase Characteristics of the Israeli Population of the Migratory Locust, *Locusta migratoria* (L.) (Orthoptera: Acrididae) // *J. Orthoptera Res.* 1994. № 2. C. 15–20.
58. Hinton H.E. Classification of Insects // *Nature.* 1955. T. 176. № 4471. C. 46–47.
59. Ho S.Y.W., Lanfear R. Improved characterisation of among-lineage rate variation in cetacean mitogenomes using codon- partitioned relaxed clocks // 2010. T. 1736.
60. Huang J. et al. DNA barcoding and species boundary delimitation of selected species of Chinese acridoidea (Orthoptera: Caelifera) // *PLoS One.* 2013. T. 8. № 12.
61. Huelsenbeck J.P., Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees // *Bioinformatics.* 2001. T. 17. № 8. C. 754–755.

62. Joern A. et al. Natural History of Mass-Action in Predator-Prey Models: A Case Study from Wolf Spiders and Grasshoppers // *Am. Midl. Nat.* 2006. T. 156. № 1. C. 52–64.
63. Johnston H.B. Annotated catalogue of African grasshoppers. Cambridge: Cambridge University Press, 1956. 833 c.
64. Johnston H.B. Annotated catalogue of African grasshoppers. Cambridge: Cambridge University Press, 1968.
65. Katoh K., Standley D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability // *Mol. Biol. Evol.* 2013. T. 30. № 4. C. 772–780.
66. Kellis M. et al. Sequencing and comparison of yeast species to identify genes and regulatory elements // 2003. C. 241–254.
67. Key K.H.L. A higher classification of the Australian Acridoidea (Orthoptera). I. General introduction and subfamily Oxyinae // *Invertebr. Syst.* 1992. T. 6. № 3. C. 547–551.
68. Kim I. et al. Polymorphism and Genomic Structure of the A + T-Rich Region of Mitochondrial DNA in the Oriental Mole // 2007. C. 589–610.
69. Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // *J. Mol. Evol.* 1980. T. 16. № 2. C. 111–120.
70. Kirby W.F. Orthoptera Saltatoria Part II. (Locustidæ vel Acrididæ) // *A synonymic Cat. Orthoptera.* 1910. T. 3. C. 1–674.
71. Kjer K. Use of rRNA secondary structure in phylogenetic studies to identify homologous positions: an example of alignment and data presentation from the frogs // 1995.
72. Knowles L. Genealogical portraits of speciation in montane grasshoppers (genus *Melanoplus*) from the sky islands of the Rocky Mountains // *Proc. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.* 2001. T. 268. № 1464. C. 319–324.
73. Knowles L., Richards C. Importance of genetic drift during Pleistocene divergence as revealed by analyses of genomic variation // *Mol. Ecol.* 2005. T. 14. № 13. C. 4023–4032.
74. Kress W.J., Erickson D.L. DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics // *PNAS.* 2008. T. 105. № 8. C. 2761–2762.
75. Kumar H. Studies on the taxonomy and diversity of acrididae orthoptera acridoidea of Indus

basin India. Aligarh: Aligarh Muslim University, 2014.

76. Lanfear R. et al. PartitionFinder : Combined Selection of Partitioning Schemes and Substitution Models for Phylogenetic Analyses Research article // 2012. T. 29. № 6. C. 1695–1701.
77. Lanfear R. et al. Partitionfinder 2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses // Mol. Biol. Evol. 2017. T. 34. № 3. C. 772–773.
78. Leavitt J.R. et al. Searching for the optimal data partitioning strategy in mitochondrial phylogenomics: A phylogeny of Acridoidea (Insecta: Orthoptera: Caelifera) as a case study // Mol. Phylogenet. Evol. 2013. T. 67. № 2. C. 494–508.
79. Lee M.S.Y., Palci A. Review Morphological Phylogenetics in the Genomic Age // Curr. Biol. 2015. T. 25. № 19. C. R922–R929.
80. Lemoine F. et al. Renewing Felsenstein’s phylogenetic bootstrap in the era of big data // Nature. 2018. T. 556. № 7702. C. 452–456.
81. Li B., Liu Z., Zheng Z.M. Phylogeny and classification of the Catantopidae at the tribal level (Orthoptera, Acridoidea) // Zookeys. 2011. T. 148. C. 209–225.
82. Li D. et al. Genetic diversity , molecular phylogeny and selection evidence of the silkworm mitochondria implicated by complete resequencing of 41 genomes // 2010.
83. Li H. et al. Higher-level phylogeny of paraneopteran insects inferred from mitochondrial genome sequences // 2015. C. 1–10.
84. Liu D.-F. et al. Molecular Phylogeny of the Higher Category of Acrididae (Orthoptera: Acridoidea) // Zool. Res. (ISSN 0254-5853) Vol 29 Num 6. 2009. T. 29.
85. Lopez H., Contreras Æ.H.G., Juan Æ.C. Delimiting species boundaries for endangered Canary Island grasshoppers based on DNA sequence data // 2007. C. 587–598.
86. Ma P. et al. Phylogenetic Relationships within Cation Transporter Families of *Arabidopsis* // 2001. T. 126. № August. C. 1646–1667.
87. Marra M.A. et al. The Genome Sequence of the SARS-Associated Coronavirus // 2003. T. 300. № May. C. 1399–1405.

88. Mason J.B. Number of Antennal segments in adult Acrididae (Orthoptera) // Proc. R. Entomol. Soc. London. Ser. B, Taxon. 1954. T. 23. № 11-12. C. 228–238.
89. Massa B. Pamphagidae (Orthoptera: Caelifera) of North Africa: Key to genera and the annotated check-list of species // Zootaxa. 2013. T. 3700. № 3. C. 435–475.
90. Maxwell-Lefroy H. Indian insect life : a manual of the insects of the plains (tropical India). London: Thacker, Spink & Co., W. Thacker & Co., 2 Creed Lane, London, 1909.
91. McMahon D.P., Hayward A., Kathirithamby J. The First Molecular Phylogeny of Strepsiptera (Insecta) Reveals an Early Burst of Molecular Evolution Correlated with the Transition to Endoparasitism // 2011. T. 6. № 6.
92. Michener C.D., Sokal R.R. A quantitative approach to a problem in classification // Evolution. 1957. T. 11. № 2. C. 130–162.
93. Minh B.Q., Nguyen M.A.T., Haeseler A. Von. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap // Mol. Biol. Evol. 2013. T. 30. № 5. C. 1188–1195.
94. Misof B. et al. Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution // Science (80-. ). 2014. T. 346. № 6210.
95. Mitchell J.E., Pfadt R.E. A Role of Grasshoppers in a Shortgrass Prairie Ecosystem1 // Environ. Entomol. 1974. T. 3. № 2. C. 358–360.
96. Nardi F. et al. Hexapod Origins : Monophyletic or Paraphyletic ? // 2003. T. 299. № March. C. 1887–1890.
97. Nascimento F.F., Reis M., Yang Z. A biologist's guide to Bayesian phylogenetic analysis // Nat Ecol Evol. 2018. T. 2017. № 10. C. 1446–1454.
98. Nattier R. et al. Evolution of acoustic communication in the Gomphocerinae (Orthoptera: Caelifera: Acrididae) // Zool. Scr. 2011. T. 40. № 5. C. 479–497.
99. New T. David Rentz: A guide to the katydids of Australia // J. Insect Conserv. - J INSECT Conserv. 2010. T. 14. C. 579–580.
100. Paten B. et al. Genome-wide nucleotide-level mammalian ancestor reconstruction // 2008. T. 4. C. 1829–1843.
101. Patwardhan A., Ray S., Roy A. Molecular Markers in Phylogenetic Studies-A Review // J.

Phylogenetics Evol. Biol. 2014. T. 2. № 2.

102. Pedersen J.S. et al. Identification and Classification of Conserved RNA Secondary Structures in the Human Genome // 2006. T. 2. № 4.

103. Pener M.P., Simpson S.J. Locust Phase Polyphenism: An Update / под ред. S.J. Simpson, M.P.B.T.-A. in I.P. Pener. : Academic Press, 2009. C. 1–272.

104. Porter C.H., Collins F.H. Species diagnostic differences in a rDNA internal transcribed spacer from the sibling species *Anopheles freeborni* and *Anopheles hermsi* (Diptera: Culicidae) // Am. J. Trop. Med. Hyg. 1991. T. 45. № 2. C. 271–279.

105. Rehn J.A.G. Grasshoppers and Locusts (Acridoidea) of Australia. Family Acrididae: Subfamily Cyrtacanthacridinae tribes Oxyini, Spathosternini and Praxibulini. , 1953. 2–270 c.

106. Rehn J.A.G., Grant H.J. A monograph of the Orthoptera of North America (north of Mexico). Philadelphia: Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 1961. 1–179 c.

107. Ren Z.-M., Ma E.-B., Guo Y.-P. The studies of the phylogeny of Acridoidea based on mtDNA sequences // Acta Genet. Sin. 2002. T. 29. C. 314–321.

108. Roberts H.R. A comparative study of the subfamilies of the Acrididae primarily on the basis of their phallic structures // Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia. 1941. T. 93. № 1941. C. 201–246.

109. Rota O., Wahlberg N. Exploration of data partitioning in an eight-gene data set: phylogeny of metalmark moths (Lepidoptera, Choreutidae) // Zool. Scr. 2012. № February. C. 1–11.

110. Rubinoff D., Holland B.S. Between Two Extremes : Mitochondrial DNA is neither the Panacea nor the Nemesis of Phylogenetic and Taxonomic Inference // 2005. T. 54. № 6. C. 952–961.

111. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. // Mol. Biol. Evol. 1987. T. 4. № 4. C. 406–425.

112. Salipante S.J., Horwitz M.S. Phylogenetic fate mapping // 2006. T. 103. № 14.

113. Saussure H. de. Prodrômus Oedipodiorum insectorum ex ordine orthopterorum ... . Genève,; Librairie H. Georg, 1884.

114. Sheffield N. et al. Mitochondrial genomics in Orthoptera using MOSAS // Mitochondrial DNA. 2010. T. 21. C. 87–104.



115. Simon C. et al. Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers // *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1994. T. 87. № 6. C. 651–701.
116. Simossis V.A., Heringa J. PRALINE: A multiple sequence alignment toolbox that integrates homology-extended and secondary structure information // *Nucleic Acids Res.* 2005. T. 33. C. 289–294.
117. Song H. Grasshopper Systematics: Past, Present and Future // *J. Orthoptera Res.* 2010. T. 19. № 1. C. 57–68.
118. Song H. et al. 300 million years of diversification: Elucidating the patterns of orthopteran evolution based on comprehensive taxon and gene sampling // *Cladistics.* 2015. T. 31. № 6. C. 621–651.
119. Song H. et al. Evolution, Diversification, and Biogeography of Grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) // *Insect Syst. Divers.* 2018. T. 2. № 4.
120. Sukhikh I., Blinov A., Bugrov A. Molecular phylogenetic analysis of subfamilial placement of *Haplotropis* Saussure, 1888 (Orthoptera: Pamphagidae) based on mitochondrial and nuclear DNA markers // *Zootaxa.* 2019. T. 4551. № 5. C. 530–540.
121. Sun H., Zheng Z., Huang Y. Sequence and phylogenetic analysis of complete mitochondrial DNA genomes of two grasshopper species *Gomphocerus rufus* (Linnaeus, 1758) and *Primnoa arctica* (Zhang and Jin, 1985) (Orthoptera: Acridoidea) // *Mitochondrial DNA.* 2010. T. 21. № 3–4. C. 115–131.
122. Sword G.A., Joern A., Senior L.B. Host plant-associated genetic differentiation in the snakeweed grasshopper, *Hesperotettix viridis* (Orthoptera: Acrididae) // *Mol. Ecol.* 2005. T. 14. № 7. C. 2197–2205.
123. Sword G.A., Lecoq M., Simpson S.J. Phase polyphenism and preventative locust management // *J. Insect Physiol.* 2010. T. 56. № 8. C. 949–957.
124. Tamura K., Nei M. Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and // 1993. T. 10. № 3.
125. Temu E.A., Yan G. Microsatellite and mitochondrial genetic differentiation of *Anopheles arabiensis* (Diptera: Culicidae) from Western Kenya, the Great rift valley, and coastal Kenya //

2005. T. 73. № 4. C. 726–733.

126. Thalmann O.J., Hebler H.N., Poinar S.L. Unreliable mtDNA data due to nuclear insertions : a cautionary tale from analysis of humans and other great apes // 2004. C. 321–335.

127. Thomas C. Notes on Orthoptera // Can. Entomol. 1880. T. 12. C. 221–224.

128. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Res. 1994. T. 22. № 22. C. 4673–4680.

129. Thompson J.D., Thierry J.C., Poch O. RASCAL : rapid scanning and correction of multiple sequence alignments // 2003. T. 19. № 9. C. 1155–1161.

130. Trifinopoulos J. et al. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis // Nucleic Acids Res. 2016. T. 44. № W1. C. W232–W235.

131. Ünal M. Pamphagidae (Orthoptera: Acridoidea) from the Palaearctic Region: taxonomy, classification, keys to genera and a review of the tribe Nocarodeini I.Bolívar. , 2016. 1–223 c.

132. Uvarov B.. Grasshoppers and locusts. A handbook of general acridology. Cambridge: The Cambridge University, 1966. Вып. 6. 481 c.

133. Uvarov B.P. XXXVI.—Records and descriptions of South African grasshoppers of the groups Arcypteræ and Scyllinæ // Ann. Mag. Nat. Hist. Zool. Bot. Geol. 1921. T. 8. C. 369–392.

134. Wallau G.L. et al. VHICA , a New Method to Discriminate between Vertical and Horizontal Transposon Transfer : Application to the Mariner Family within *Drosophila* // 2015.

135. Walton C. et al. Identification of five species of the *Anopheles dirus* complex from Thailand, using allele-specific polymerase chain reaction // Med. Vet. Entomol. 1999. T. 13. C. 24–32.

136. Willemse C. Synopsis of the Acridoidea of the Indo-Malayan and adjacent regions (Insecta, Orthoptera) // Natuurhistorisch Genoot. Limbg. 1951. T. 4. C. 41–114.

137. Willemse C. Synopsis of the Acridoidea of the Indo-Malayan and adjacent regions (Insecta, Orthoptera) (contd.) // Publ. van het natuurhistorisch Genoot. Limbg. 1957. T. 10. C. 227–500.

138. Wilton P.R. et al. A Population Phylogenetic View of Mitochondrial Heteroplasmy // 2018. T. 208. № March. C. 1261–1274.

139. Woller D.A. et al. Studies in Mexican grasshoppers: *Liladownsia fraile*, a new genus and species of Dactyloptini (Acrididae: Melanoplinae) and an updated molecular phylogeny of Melanoplinae // Zootaxa. 2014. T. 3793. № 4. C. 475–495.
140. Xia X. Nucleotide Substitution Models and Evolutionary Distances // Bioinformatics and the Cell: Modern Computational Approaches in Genomics, Proteomics and Transcriptomics. Cham: Springer International Publishing, 2018. C. 269–314.
141. Xiong J. Essential Bioinformatics. , 2006. 127–168 c.
142. Yang Z., Rannala B. Molecular phylogenetics: principles and practice // Nat. Rev. Genet. 2012. T. 13. № 5. C. 303–314.
143. Yin X.C., Xia K.L. Fauna Sinica Insecta Vol. 32 Orthoptera Acridoidea Gomphoceridae and Acrididae // 2003.
144. Zhang D.-X., Hewitt G.M. Highly conserved nuclear copies of the mitochondrial control region in the desert locust *Schistocerca gregaria*: some implications for population studies // 1996. C. 295–300.
145. Zhang D. et al. Molecular phylogeny of Pamphagidae ( Acridoidea , Orthoptera ) from China based on mitochondrial cytochrome oxidase II sequences // 2011a. C. 234–244.
146. Zhang D., Hewitt G.M. Insect Mitochondrial Control Region : A Review of its Structure , Evolution and Usefulness in Evolutionary Studies // 1997. T. 25. № 2. C. 99–120.
147. Zhang D., Yin H., Yin X. On the taxonomic system of Eurasian Pamphagidae (Orthoptera: Caelifera) // 2003.
148. Zhang D., Zhi Y., Yin H. The complete mitochondrial genome of *Thrinchus schrenkii* ( Orthoptera : Caelifera , Acridoidea , Pamphagidae ) // 2011b. C. 611–619.
149. Zhao L. et al. A Comparative Analysis of Mitochondrial Genomes in Orthoptera (Arthropoda: Insecta) and Genome Descriptions of Three Grasshopper Species // Zoolog. Sci. 2010. T. 27. № 8. C. 662–672.
150. Zheng Z.-M., Lian Z.M. Taxonomy of grasshoppers // Shaanxi Normal Univ. Press. Xi'an. 1993. C. 57–187.
151. Zheng Z.-M., Xia K.-L. Fauna Sinica Insecta Vol. 10 Orthoptera Acridoidea Oedipodidae

and Arcypteridae // Beijing Sci. 1998. С. 1–609.

152. Бей-Биенко Г.Я., Мищенко Л.Л. Саранчовые фауны СССР и сопредельных стран. Т1. Москва - Ленинград: Изд-во Академии наук СССР, 1951а.

153. Бей-Биенко Г.Я., Мищенко Л.Л. Саранчовые фауны СССР и сопредельных стран. Т.2. Москва - Ленинград: Изд-во Академии наук СССР, 1951б.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1

**Таблица.** Список видов, использованных для построения филогении семейства Acrididae в соответствии с Orthoptera species file (Cigliano et al., 2019). В столбцах указаны номера, соответствующие последовательностям в базе данных GenBank. ПБКП – полные белок-кодирующие митохондриальные последовательности. Жирным помечены виды, последовательности которых были установлены в данной работе.

Таксоны	ПБКП	CytB	COII	COI	ITS2
<b>Acrididae</b>					
<b>Acridinae</b>					
<b>Acridini</b>					
<i>Acrida bicolor</i>		JN167855	<b>KX272710</b>	KC261403	<b>KX289534</b>
<i>Acrida cinerea</i>	KX673195	KX673195	KX673195	KX673195	<b>KX289536</b>
<i>Acrida oxycephala</i>					<b>KX289535</b>
<i>Acrida willemsei</i>	EU938372	EU938372	EU938372	EU938372	
<b>Truxalini</b>					
<i>Truxalis eximia</i>			<b>KX272711</b>	KC261407	<b>KX289540</b>
<i>Truxalis nasuta</i>		JN167922	JN002159	JN167848	
<b>Hyalopterygini</b>					
<i>Eutryxalis filata</i>		JN167881	JN002128	JN167810	
<b>Phlaeobini</b>					
<i>Phlaeoba albonema</i>	EU370925	EU370925	EU370925	EU370925	
<i>Phlaeoba infumata</i>	KU866166	KU866166	KU866166	KU866166	
<i>Phlaeoba tenebrosa</i>	KF937392	KF937392	KF937392	KF937392	
<i>Comacris lamottei</i>		JN167874	JN002122	JN167806	
<i>Duronia chloronota</i>		JX501152	<b>KX272712</b>	<b>KX272735</b>	<b>KX289541</b>
<i>Duroniella fracta</i>			DQ230807	DQ230738	
<i>Orthochtha dasyncnemis</i>		JN167906	JN002145	JN167832	
<i>Sherifuria haningtoni</i>		JN167924	JN002161	JN167850	
<b>Gymnbothrini</b>					
<i>Zacompsa festa</i>		JN167923	JN002160	JN167849	
<b>Pargini</b>					
<i>Odontomelus scalatus</i>		JN167862	JN002113	JN167797	
<i>Odontomelus togoensis</i>		JN167898	JN002139	JN167826	
<i>Parga lamottei</i>		JN167906	JN002145	JN167832	
<b>Триба не установлена</b>					
<i>Covasacris pallidinota</i>		JN191384	JN002123	DQ230739	
<b>Oedipodinae</b>					
<b>Acrotylini</b>					
<i>Acrotylus insubricus</i>		EF151870	<b>KX272684</b>	<b>KX272720</b>	<b>KX289542</b>
<i>Acrotylus patruelis</i>					KM385196

<b>Arphiini</b>					
<i>Arphia conspersa</i>		EF151873	GU476980	KU874212	
<b>Bryodemini</b>					
<i>Angaracris barabensis 1</i>	KM670011	KM670011	KM670011	KM670011	
<i>Angaracris barabensis 2</i>			<b>KX272681</b>	KM521245	
<i>Bryodema gebleri</i>			<b>KX272683</b>	KC261396	<b>KX289545</b>
<i>Bryodema luctuosum</i>	HQ833839	HQ833839	HQ833839	HQ833839	
<i>Bryodema miramae</i>	KP889242	KP889242	KP889242	KP889242	
<i>Bryodemella tuberculata</i>			<b>KX272682</b>	KC261397	<b>KX289546</b>
<i>Compsorhipis davidiana</i>	KT157830	KT157830	KT157830	KT157830	
<b>Chortophagini</b>					
<i>Chortophaga viridifasciata</i>		CVU18251	GU476988	JQ513034	JQ513088
<i>Encoptolophus costalis</i>		EF151884	JX047347	EF151850	
<b>Epacromiini</b>					
<i>Aiolopus thalassinus</i>	KY236114	KY236114	KY236114	KY236114	KM385228
<b>Hippiscini</b>					
<i>Camnula pellucida</i>		EF151871	EF151817	KU874524	
<b>Locustini</b>					
<i>Gastrimargus marmoratus</i>	EU527334	EU527334	EU527334	EU527334	
<i>Locusta migratoria</i>	GU344101	GU344101	GU344101	GU344101	KM385243
<i>Oedaleus decorus</i>	EU513374	EU513374	EU513374	EU513374	KM385261
<i>Oedaleus infernalis</i>	NC 029327	NC 029327	NC 029327	NC 029327	
<i>Pternoscirta caliginosa</i>	KX170937	KX170937	KX170937	KX170937	
<b>Oedipodini</b>					
<i>Oedipoda caerulescens</i>		EF151869	EF151815	<b>KX272719</b>	KM494666
<i>Oedipoda fedtschenki</i>			<b>KX272678</b>	KC261395	<b>KX289575</b>
<i>Oedipoda miniata</i>		EF151874	EF151820	EF151840	
<i>Mioscirtus wagneri</i>			EU913775	KC261394	<b>KX289566</b>
<b>Parapleurini</b>					
<i>Ceracris versicolor</i>	KJ188251	KJ188251	KJ188251	KJ188251	
<i>Ceracris kiangsu</i>	GU270284	GU270284	GU270284	GU270284	
<i>Ceracris nigricornis</i>		AY157540	JQ996572	JX840341	
<i>Mecostethus parapleurus</i>					<b>KX289538</b>
<i>Stethophyma gracile</i>		DQ230826	DQ230806	DQ230737	
<i>Stethophyma grossum</i>			<b>KX272715</b>	<b>KX272733</b>	<b>KX289539</b>
<i>Stethophyma lineatum</i>			JX047339	KM534435	
<i>Parapleurus alliaceus</i>			<b>KX272714</b>	KC261393	
<b>Psinidiini</b>					
<i>Metator pardalinus</i>		EF151883	EF151826	EF151849	
<b>Sphingonotini</b>					
<i>Leptopternis maculata</i>					JQ513094
<i>Helioscirtus capsitanus</i>					KM494711
<i>Sphingoderus carinatus</i>					KM494692
<i>Sphingonotus corsicus</i>					JQ286696
<i>Sphingonotus nebulosus</i>		EF151901	EF151832	KC261401	
<i>Sphingonotus pamiricus</i>					<b>KX289579</b>
<i>Sphingonotus rubescens</i>			<b>KX272680</b>	JQ513069	KM494710

<i>Sphingonotus eurasius</i>			--	KC261399	
<i>Sphingonotus maculatus</i>			<b>KX272679</b>	KC261398	
<i>Thalpomena algeriana</i>					KM494714
<i>Thalpomena coerulescens</i>					KM494713
<i>Thalpomena rungsi</i>					KM494715
<i>Vosseleriana arabica</i>					KM494716
<b>Trilophidiini</b>					
<i>Trilophidia annulata</i>	KP233803	KP233803	KP233803	KP233803	
<b>Trimerotropini</b>					
<i>Spharagemon campestris</i>		EF151872	EF151818	EF151838	
<i>Conozoa texana</i>					JQ286699
<i>Circotettix rabula</i>					JQ286710
<i>Circotettix stenometopus</i>					JQ513091
<i>Trimerotropis pallidipennis</i>		EF151898	GU476998	JQ513036	MF164246
<i>Dissosteira carolina</i>		EF151885	EF151828	HQ978845	
<b>Gomphocerinae</b>					
<b>Amblytropidiini</b>					
<i>Boopedon nubilum</i>			JN002116	AF229011	
<b>Acrolophitini</b>					
<i>Bootettix argentatus</i>		JN167866	JN002117	JN167802	
<b>Aulacobothrini</b>					
<i>Eremippus pusillus</i>			<b>KX272697</b>	<b>KC261380</b>	<b>KX289561</b>
<i>Eremippus sobolevi</i>			<b>KX272698</b>	<b>KX272727</b>	<b>KX289560</b>
<i>Eremippus mirami</i>			<b>KX272699</b>	<b>KX272728</b>	<b>KX289563</b>
<i>Eremippus simplex</i>			<b>KX272700</b>	<b>KX272729</b>	<b>KX289562</b>
<i>Pnorisa angulata</i>		JN167909	JN002148	JN167836	
<b>Amblytropidiini</b>					
<i>Syrbula admirabilis</i>					
<b>Aulocarini</b>					
<i>Aulocara femoratum</i>			DQ230792	DQ230722	
<i>Aulocara elliotti</i>		JN167865	JN002115	DQ230719	
<i>Ageneotettix deorum</i>			DQ230789	KM531951	
<b>Arcypterini</b>					
<i>Arcyptera albogeniculata</i>			<b>KX272688</b>	<b>KX272721</b>	<b>KX289543</b>
<i>Arcyptera fusca</i>		AY738384	JQ996566	AY738368	<b>KX289544</b>
<i>Arcyptera coreana</i>	GU324311	GU324311	GU324311	GU324311	
<i>Arcyptera brevipennis</i>		DQ230813	DQ230783	DQ230713	
<i>Ptygonotus gansuensis</i>			DQ230805	DQ230736	
<b>Chrysochraontini</b>					
<i>Chloealtis conspersa</i>			JN002121	KM528166	
<i>Chrysochraon dispar</i>		AY738392	DQ230800	KC261392	<b>KX289567</b>
<i>Chrysochraon</i> sp.					<b>KX289570</b>
<i>Euchorthippus fusigeniculatus</i>	HM583652	HM583652	HM583652	HM583652	
<i>Euchorthippus pulvinatus</i>		JN167879	<b>KX272693</b>	DQ230711	<b>KX289568</b>
<i>Euchorthippus unicolor</i>		JQ996622	JQ996591	KC261385	<b>KX289569</b>
<i>Euthystira brachyptera</i>		JN187525	<b>KX272696</b>	<b>KX272726</b>	
<i>Mongolotettix japonicus</i>					<b>KX289570</b>

<i>Podismopsis genicularibus</i>			<b>KX272695</b>	<b>KX272725</b>	<b>KX289578</b>
<i>Podismopsis genicularibus kurilensis</i>			<b>KX272694</b>	<b>KX272724</b>	
<b>Dociostaurini</b>					
<i>Dociostaurus brevicollis</i>					<b>KX289558</b>
<i>Dociostaurus maroccanus</i>		DQ230814	DQ230784	DQ230714	KM385038
<i>Dociostaurus tartarus</i>			<b>KX272690</b>	KC261389	
<i>Mizonocara kusnetzovae</i>					<b>MK025992</b>
<i>Notostaurus</i> sp.			<b>KX272691</b>	<b>KX272723</b>	<b>KX289574</b>
<i>Notostarius albicornis</i>		AY738380	<b>KX272692</b>	HQ738947	<b>KX289571</b>
<i>Notostaurus anaticus</i>					<b>KX289572</b>
<i>Notostaurus popovi</i>					<b>KX289573</b>
<i>Xerohippus anaticus</i>			DQ230785	DQ230715	
<b>Gomphocerini</b>					
<i>Aeropedellus variegatus</i>			DQ230782	<b>KX272731</b>	<b>KX289547</b>
<i>Aeropedellus clavatus</i>		EF565468	DQ230777	DQ230708	
<i>Aeropedellus reuteri</i>		JN167858	JN002110	JN167793	
<i>Bruneria brunnea</i>		JN167867	DQ230776	DQ230707	
<i>Chorthippus macrocerus</i>			<b>KX272704</b>	KC261382	<b>KX289548</b>
<i>Glyptobothrus pamiricus</i>			<b>KX272705</b>	KC261383	<b>KX289549</b>
<i>Fallax strelkovi</i>			--	KC261384	<b>KX289550</b>
<i>Chorthippus albomarginatus</i>		AY738374	JQ996561	AY738361	
<i>Chorthippus hammarstroemi</i>		AY738370	JQ996579	AY738353	
<i>Chorthippus intermedius</i>		AY738369	JQ996577	AY738352	
<i>Chorthippus apricarius</i>		JQ996619	JQ996588	AY738351	
<i>Megaulacobothrus aethalinus</i>		AY738371	JQ996575	AY738350	
<i>Glyptobothrus biguttulus</i>		AY738372	JQ996573	AY738349	
<i>Megaulacobothrus chinensis</i>	EU029161	EU029161	EU029161	EU029161	
<i>Pseudochorthippus parallelus</i>		AY738373	X95575	X95575	AY585651
<i>Gomphocerippus rufus</i>	GU294759	GU294759	<b>KX272707</b>	KC261386	<b>KX289551</b>
<i>Gomphocerus licenti</i>	GQ180102	GQ180102	GQ180102	GQ180102	
<i>Gomphocerus sibiricus 1</i>	JX122541	JX122541	JX122541	JX122541	
<i>Gomphocerus sibiricus 2</i>			<b>KX272708</b>	GU706071	
<i>Mesasippus kozhevnikovi</i>					<b>KX289553</b>
<i>Myrmeleotettix maculatus</i>		JN187523	JN002137	JN187508	
<i>Stauroderus scalaris</i>		JQ996610	<b>KX272709</b>	KM384845	<b>KX289552</b>
<b>Mermiriini</b>					
<i>Achurum carinatum</i>		JN167853	DQ230788	DQ230717	
<i>Achurum minimipenne</i>			JN002105	JN167788	
<b>Ochrilidini</b>					
<i>Gonista</i> sp. (africa)			<b>KX272713</b>	<b>KX272736</b>	<b>KX289537</b>
<i>Gonista bicolor</i>	KR347439	KR347439	KR347439	KR347439	
<i>Rhaphotittha levis</i>		JN167908	JN002147	JN167835	
<i>Thyridota dispar</i>		JN167921	<b>KX272716</b>	<b>KX272739</b>	
<b>Orinhippini</b>					
<i>Orinhippus tibetanus</i>	KF857227	KF857227	KF857227	KF857227	
<b>Orphulellini</b>					



<i>Orphulella speciosa</i>		JN167901	JN002141	JN167828	
<i>Dichromorpha viridis</i>		JN167875	JN002124	JN167807	
<b>Pacrini</b>					
<i>Pacris xizangensis</i>	HQ833838	HQ833838	HQ833838	HQ833838	
<b>Paropomalini</b>					
<i>Cordillacris occipitalis</i>			DQ230790	DQ230720	
<i>Parapomala wyomingensis</i>		JN167904	JN002144	JN167831	
<b>Ramburiellini</b>					
<i>Ramburiella turcomana</i>		JN167912	DQ230780	DQ230710	
<i>Ramburiella bolivari</i>			--	HQ738959	<b>KX289554</b>
<b>Scyllinini</b>					
<i>Rhammatocerus schistocercoides</i>		JN167914	JN002152	JN167840	
<i>Rhammatocerus pictus</i>		JN167913	JN002151	JN167839	
<b>Stenobothrini</b>					
<i>Omocestus minutissimus</i>			DQ230802	KM384843	KM385104
<i>Omocestus haemorrhoidalis</i>		AY738382	JQ996560	AY738364	
<i>Omocestus nanus</i>			<b>KX272701</b>	<b>KX272730</b>	<b>KX289559</b>
<i>Omocestus raymondi</i>					KM385117
<i>Omocestus rufipes</i>		JN187521	KF855915	FJ555544	
<i>Stenobothrus lineatus</i>			JN002154	GU706143	
<i>Stenobothrus festivus</i>					KM385167
<i>Stenobothrus nigromaculatus</i>		JQ996612	JQ996580	HQ738965	
<i>Stenobothrus sviridenkoi</i>		AY738395	<b>KX272702</b>	AY738395	
<b>Calliptaminae</b>					
<i>Calliptamus abbreviatus</i>	KX289321	KX289321	KX289321	KX289321	
<i>Calliptamus barbarus</i>		DQ366770	JX033923	KC261372	
<i>Calliptamus italicus</i>	EU938373	EU938373	EU938373	EU938373	
<i>Peripolus nepalensis</i>	HQ833843	HQ833843	HQ833843	HQ833843	
<b>Catantopinae</b>					
<b>Catantopini</b>					
<i>Diabolocatantops pinguis</i>			FJ554815	KC139975	
<i>Phaulacridium vittatum</i>					KP784380
<i>Phaulacridium otagoense</i>					KP784383
<i>Sigauss australis</i>					KM576254
<i>Stenocatantops splendens</i>			FJ554816	KC139978	
<i>Xenocatantops brachycerus</i>	KC542806	KC542806	KC542806	KC542806	
<i>Xenocatantops humilis</i>		EU366112	FJ554817	EU366111	
<b>Mesambrini</b>					
<i>Traulia minuta</i>	MF113247	MF113247	MF113247	MF113247	
<i>Traulia ornata</i>			--	MK059456	
<i>Traulia szetschuanensis</i>	EU914849	EU914849	EU914849	EU914849	
<b>Diexini</b>					
<i>Diexis varentzovi</i>			--	KC261369	
<b>Триба не установлена</b>					
<i>Apalacris varicornis</i>			FJ554811	EU366077	
<i>Apalacris sp.</i>			FJ554812	FJ571152	
<i>Kosciuscola cuneatus</i>			JX827331	JX827275	

<i>Kosciuscola tasmanicus</i>			JX827322	JX827267	
<i>Kosciuscola usitatus</i>			JX827367	JX827313	
<i>Longchuanacris curvifurcula</i>	MF989227	MF989227	MF989227	MF989227	
<b>Coptacrinae</b>					
<i>Ecphantacris mirabilis</i>			FJ554819	FJ571157	
<b>Conophymatinae</b>					
<b>Conophymatini</b>					
<i>Comophyma kusnezovi</i>			<b>KX272674</b>	KC261363	
<i>Conophyma stebaevi</i>			<b>KX272675</b>	<b>KX272737</b>	
<i>Conophyma reinigi</i>					<b>KX289557</b>
<i>Conophyma poimazaricum</i>			<b>KX272675</b>	<b>KX272738</b>	<b>KX289556</b>
<b>Cyrtacanthacridinae</b>					
<b>Cyrtacanthacridini</b>					
<i>Acanthacris ruficornis</i>		KY981017	KY980944	KY980907	JQ796361
<i>Anacridium aegyptium</i>		JX033930	JX033922	KC261371	
<i>Anacridium</i> sp.					JQ796362
<i>Austracris guttulosa</i>		KY981015	KY980942	KY980905	JQ796364
<i>Chondracris rosea</i>	GU249619	GU249619	GU249619	GU249619	AF385197
<i>Cyrtacanthacris tatarica</i>					JQ796363
<i>Halmenus robustus</i>		KY981004	KY980931	KY980894	JQ796360
<i>Patanga japonica</i>	MF113246	MF113246	MF113246	MF113246	
<i>Nomadacris septemfasciata</i>		KY981018	KY980945	KY980908	
<i>Schistocerca melanocera</i>		KY981003	KY980930	KY980893	JQ796354
<i>Schistocerca gregaria</i>	GQ491031	GQ491031	GQ491031	GQ491031	EU204047
<i>Schistocerca pallens</i>		KY981011	KY980928	KY980917	JQ796350
<i>Valanga</i> sp.					JQ796365
<b>Eyprepocnemidinae</b>					
<b>Eyprepocnemidini</b>					
<i>Choroedocus violaceipes</i>	KY236113	KY236113	KY236113	KY236113	
<i>Eyprepocnemis plorans meridionalis</i>					KM384968
<i>Eyprepocnemis plorans plorans</i>		JX033936	<b>KX272677</b>	KC261374	KM384951
<i>Heteracris adspersa</i>					KM384984
<i>Heteracris littoralis</i>					KM385005
<i>Shirakiacris shirakii</i>	JN022583	JN022583	JN022583	JN022583	
<i>Shirakiacris yunkweiensis</i>		DQ366754	DQ099581	KC139848	
<b>Hemiacridinae</b>					
<b>Hieroglyphini</b>					
<i>Hieroglyphus tonkinensis</i>	KX170936	KX170936	KX170936	KX170936	
<b>Melanoplinae</b>					
<b>Conalcaeini</b>					
<i>Barytettix humphreysi</i>			AF317195	AF228999	
<b>Dactylotini</b>					
<i>Dactylotum bicolor</i>			KJ531431	AY014317	
<i>Liladownsia fraile</i>			KJ531433	KJ531423	
<i>Perixerus squamipennis</i>			KJ531437	KJ531427	
<b>Podismini</b>					

<b>Miramellina</b>					
<i>Anapodisma miramae</i>			KF960009	MG888100	
<i>Curvipennis wixiensis</i>			KX553995	KX553995	
<i>Miramella alpina</i>		JX033935	AF227292	AF260543	
<i>Zubovskya koeppeni</i>			KF960029	JQ301456	
<b>Podismina</b>					
<i>Miramellina wixiensis</i>	KX553995	KX553995	KX553995	KX553995	
<i>Ognevia longipennis 1</i>	EU914848	EU914848	EU914848	EU914848	
<i>Ognevia longipennis 2</i>			<b>KX272673</b>	<b>KX272718</b>	
<i>Ognevia sergii</i>			<b>KX272672</b>	KC261364	
<i>Podisma pedestris</i>		AY738393	AF227277	AY738348	
<i>Pseudopodisma nagy</i>			AY004198	AY004200	
<i>Yunnanacris yunnaneus</i>	KX223964	KX223964	KX223964	KX223964	
<i>Yunnanacris wenshanensis</i>	KX296781	KX296781	KX296781	KX296781	
<b>Tonkinacridina</b>					
<i>Fruhstorferiola kulinga</i>	KP347043	KP347043	KP347043	KP347043	
<i>Fruhstorferiola huayinensis</i>	KU668856	KU668856	KU668856	KU668856	
<i>Fruhstorferiola sp</i>	KU355786	KU355786	KU355786	KU355786	
<i>Fruhstorferiola tonkinensis</i>	KU942377	KU942377	KU942377	KU942377	
<i>Parapodisma mikado</i>			AY004181	KY558878	
<i>Tonkinacris sinensis</i>	KX375764	KX375764	KX375764	KX375764	
<i>Sinopodisma punctata</i>			<b>KX272670</b>	KC261365	
<i>Sinopodisma tsinlingensis</i>	KX857635	KX857635	KX857635	KX857635	
<i>Sinopodisma wulingshanensis</i>	KX857637	KX857637	KX857637	KX857637	
<i>Sinopodisma houshana</i>	KX857634	KX857634	KX857634	KX857634	
<b>Bradynotae</b>					
<i>Bradynotes obesa</i>			KJ531429	MG888123	
<i>Kingdonella bicollina</i>	HQ833840	HQ833840	HQ833840	HQ833840	
<b>sub Триба не установлена</b>					
<i>Prumna arctica</i>	GU294758	GU294758	GU294758	GU294758	
<i>Prumna primnoa</i>			<b>KX272671</b>	<b>KX272717</b>	
<i>Qinlingacris elaeodes</i>	KM363599	KM363599	KM363599	KM363599	
<i>Qinlingacris taibaiensis</i>	KR108252	KR108252	KR108252	KR108252	
<b>Dichroplini</b>					
<i>Atrachelacris grammineus</i>			AY014358	AY014360	
<i>Baeacris pseudopunctulatus</i>			DQ083436	DQ083452	
<i>Digamacris amoena</i>			AY014339	AY014341	
<i>Dichroplus elongatus</i>			KY595076	KY595084	
<i>Leiotettix viridis</i>			AY014351	AY014353	
<i>Hazelacris nigrovittatus</i>			AF373007	AF373009	
<i>Neopedies brunneri</i>			DQ083447	DQ083466	
<i>Ronderosia forcipatus</i>			DQ083449	DQ083468	
<i>Pseudoscopas nigrigena</i>			AY014347	FJ829342	
<i>Scotussa lemniscata</i>		DQ389239	DQ389215	FJ829338	
<b>Melanoplina</b>					
<i>Hesperotettix viridis</i>			KJ531432	MG888125	EF213123
<i>Hypochlora alba</i>			AF260545	KM530673	

<i>Melanoplus frigidus</i>			KF960030	KC261366	<b>KX289565</b>
<i>Melanoplus bivittatus</i>			KJ531434	KR140392	
<i>Melanoplus mexicanus</i>			KJ531436	AY147154	
<i>Phoetaliotes nebrascensis</i>			AF260553	KM529274	
<b>Jivarini</b>					
<i>Jivarus gurneyi</i>			DQ389217	DQ389231	
<i>Nahuelia rubriventris</i>			AF539838	AF539840	
<b>Триба не установлена</b>					
<i>Aidemona alticola</i>			AY014319	AY014321	
<b>Pezotettiginae</b>					
<i>Pezotettix anatolica</i>			--	KC261370	<b>KX289577</b>
<i>Pezotettix giornae</i>		JX033927	JX033920	KM384834	EF134449
<i>Armindia brunneri</i>					EF134436
<i>Armindia latifrons</i>					EF134444
<i>Armindia hierroensis</i>					EF134445
<b>Oxyinae</b>					
<b>Oxyini</b>					
<i>Caryanda modesta</i>	MF095791	MF095791	MF095791	MF095791	
<i>Caryanda sp</i>	KU375571	KU375571	KU375571	KU375571	
<i>Oxya chinensis</i>	EF437157	EF437157	EF437157	EF437157	AF385193
<i>Oxya japonica</i>		AY615851	<b>KX272685</b>	KC261378	AF385194
<i>Oxya hyla</i>	KX673203	KX673203	KX673203	KX673203	AF385196
<i>Oxya fuscovittata</i>			<b>KX272686</b>	<b>KC261379</b>	
<i>Oxya yezoensis</i>					AF385195
<i>Oxya sp.</i>					<b>KX289576</b>
<i>Pseudoxya diminuta</i>	KM244694	KM244694	KM244694	KM244694	
<b>Spathosterninae</b>					
<i>Spathosternum prasiniferum</i>	KM588074	KM588074	KM588074	KM588074	
<b>Spathosterninae</b>					
<i>Coscineuta sp.</i>			KJ531430	KJ531420	
<b>Pamphagidae</b>					
<b>Thrinchinae</b>					
<b>Thrinchini</b>					
<i>Asiotmethis jubatus</i>	KF658071	KF658071	KF658071	KF658071	
<i>Asiotmethis zacharjini</i>	JX468876	JX468876	JX468876	JX468876	
<i>Sinotmethis brachypterus</i>	KP170509	KP170509	KP170509	KP170509	
<i>Thrinchus schrenkii</i>	GU181288	GU181288	GU181288	GU181288	
<i>Filchnerella helanshanensis</i>	JX468877	JX468877	JX468877	JX468877	
<i>Filchnerella beicki</i>	KC831767	KC831767	KC831767	KC831767	
<i>Pseudotmethis rubimarginis</i>	JX468878	JX468878	JX468878	JX468878	
<b>Haplotropidini</b>					
<i>Humphaplotropis culaishanensis</i>	KF931338	KF931338	KF931338	KF931338	
<b>Pamphaginae</b>					
<b>Nocarodeini</b>					
<i>Nocaracris bulgaricus</i>					MG905239
<i>Nocaracris elegans</i>					MG905240
<i>Nocaracris rubripes</i>					MG905243

<b>Ommexechidae</b>					
<b>Ommexechinae</b>					
<i>Ommexecha virens</i>	JX913775	JX913775	JX913775	JX913775	
<b>Romaleidae</b>					
<b>Procolpini</b>					
<i>Xyleus modestus</i>	GU945503	GU945503	GU945503	GU945503	
<b>Tristiridae</b>					
<b>Tristirini</b>					
<i>Tristira magellanica</i>	JX913765	JX913765	JX913765	JX913765	
<b>Lithidiidae</b>					
<i>Lithidiopsis carinatus</i>	JX913770	JX913770	JX913770	JX913770	
<b>Lentulidae</b>					
<i>Lentula callani</i>	JX913769	JX913769	JX913769	JX913769	
<b>Pyrgacrididae</b>					
<i>Pyrgacris descampsi</i>	JX913771	JX913771	JX913771	JX913771	
<b>Pyrgomorphidae</b>					
<b>Sphenariini</b>					
<i>Mekongiella kingdoni</i>	HQ833842	HQ833842	HQ833842	HQ833842	
<b>Tanaoceridae</b>					
<i>Tanaocerus koebelei</i>	JX913774	JX913774	JX913774	JX913774	
<b>Tettigoniidae</b>					
<i>Ruspolia lineosa</i>	KX057729	KX057729	KX057729	KX057729	
<i>Decma fissa</i>	KX057710	KX057710	KX057710	KX057710	
<i>Hexacentrus unicolor</i>	KX057739	KX057739	KX057739	KX057739	
<i>Lipotactes tripyrga</i>	KX057736	KX057736	KX057736	KX057736	

## Приложение 2

**Таблица.** Список видов, использованных для построения филогении семейства Pamphagidae. В столбцах указаны номера, соответствующие последовательностям в базе данных GenBank. Звездочками помечены виды, последовательности которых были установлены в данной работе.

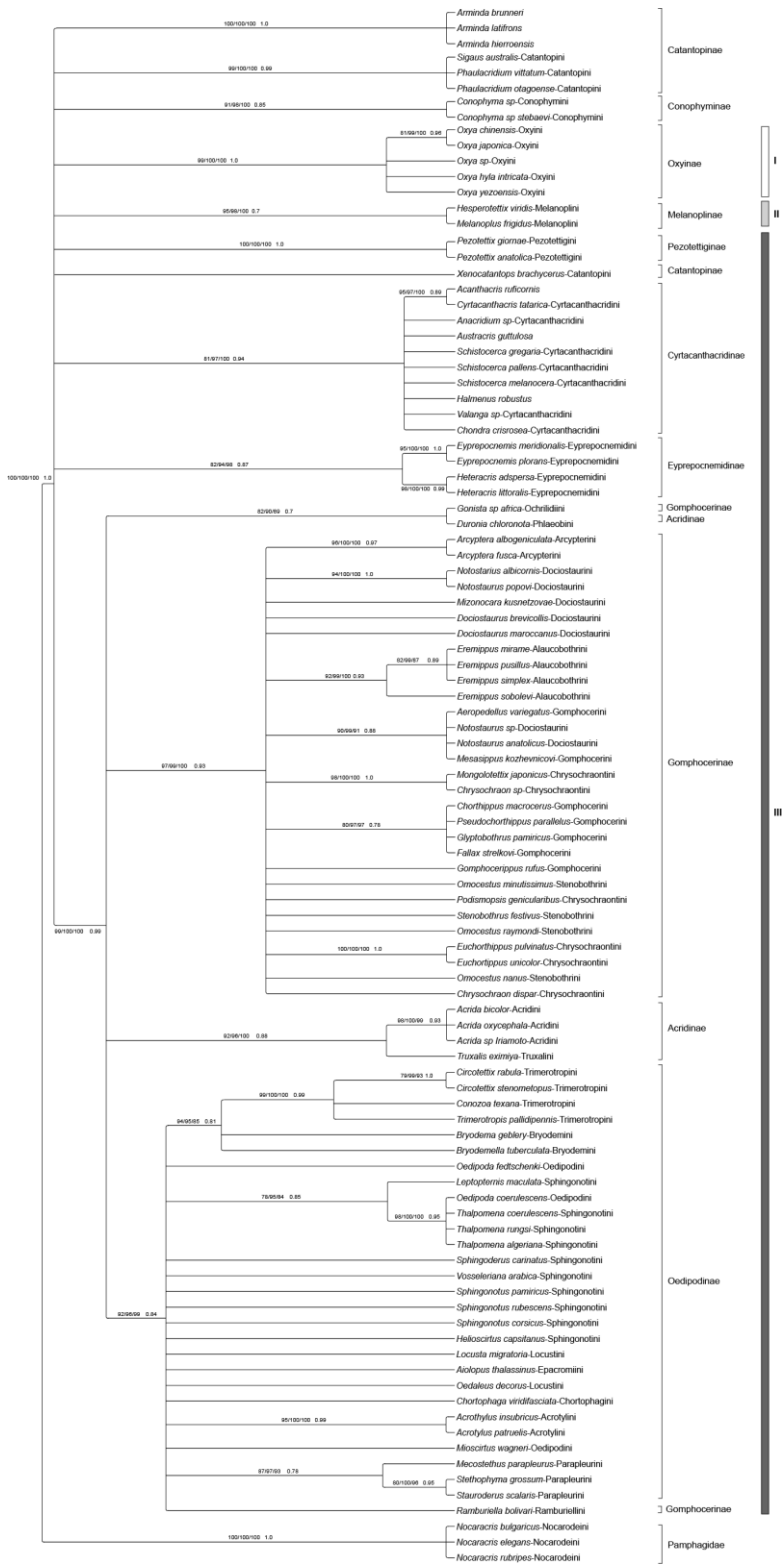
Таксоны	COI	COII	ITS2
<b>Pamphaginae</b>			
<b>Pamphagini</b>			
<i>Acinipe comptei</i>	--	--	AM259575
<i>Acinipe segurensis</i>	--	--	AM259567
<i>Eumigus monticola</i>	--	--	KM385324
<i>Eumigus rubioi</i>	--	--	AM259576
<i>Glauia durieui</i>	--	--	AM259569
<i>Orchamus yersini davisii</i>	--	--	AM259568
<i>Acinipe tuberculata</i>	*	*	*
<i>Acinipe</i> sp	*	*	*
<i>Paracinipe exarata</i>	--	--	AM259574
<i>Paracinipe mauritanica</i>	--	--	AM259577
<i>Pseudoglauia terrea</i>	*	*	*
<b>Euryaryphini</b>			
<i>Eunapiodes</i> sp.	--	--	AM259572
<i>Euryaryphes flexuosus</i>	*	*	*
<i>Euryaryphes terrulentus</i>	--	--	AM259573
<i>Paraeumigus parvulus</i>	--	--	AM259578
<b>Nocarodeini</b>			
<i>Nocarodes</i> sp. 1	*	*	*
<i>Nocarodes</i> sp. 2	*	*	*
<i>Nocaracris cyanipes</i>	KF951248*	*	MG905244*
<i>Nocaracris furvus furvus</i>	MG895897*	MG895904*	MG905242*
<i>Nocaracris bodenheimeri</i>	MG895898*	MG895905	MG905238
<i>Nocaracris bulgaricus</i>	KF951252	*	MG905239*
<i>Nocaracris citripes</i>	*	MG895906*	MG905241*
<i>Nocaracris elegans</i>	KF951249*	*	MG905240*
<i>Nocaracris burri</i>	*	*	*
<i>Paranocarodes karabagi</i>	MG895899*	MG895907*	MG905246*
<i>Paranocarodes anatoliensis</i>	*	*	*
<i>Nocaracris rubripes</i>	*KF951253	*	MG905243*
<i>Nocaracris sureyana</i>	*	*	*
<i>Nocaracris sabulosa</i>	MG895900*	MG895908*	MG905237*
<i>Paranocarodes chopardi</i>	KF951250*	*	MG905236*
<i>Paranocarodes straubei</i>	KF951251*	*	*
<i>Paranothrotres citimus</i>	*	*	*
<i>Paranothrotres opacus</i>	KF951255	*	MG905245

Tropidauchenini			
<i>Saxetania cultricollis (paramonovi)</i>	*	*	*
<i>Tropidauchen</i> sp. 1	*	*	*
<i>Tropidauchen</i> sp. 2	*	*	*
No tribal rank			
<i>Acrostira euphorbiae</i>	--	--	AM259559
<i>Acrostira tamarani</i>	--	--	AM259561
<i>Acrostira</i> sp	--	--	AM259558
<i>Purpuraria erna</i>	--	--	AM259566
Thrinchinae			
Thrinchini			
<i>Asiotmethis heptapotamicus</i>	KF951245	*	MG905228
<i>Asiotmethis jubatus</i>	KF658071	KF658071	--
<i>Asiotmethis muricatus</i>	KF951246	*	MG905229
<i>Asiotmethis tauricus</i>	*	*	*
<i>Asiotmethis turritus</i>	KF951247	*	MG905230
<i>Asiotmethis zacharjini</i>	JX468876	JX468876	--
<i>Beybienkia songorica</i>	JF412671	GQ421458	--
<i>Beybienkia amica</i>	JQ301464	--	--
<i>Beybienkia brachyptera</i>	KP170509	KP170509	--
<i>Eotmethis jintaiensis</i>	--	GQ421445	--
<i>Eotmethis</i> sp.	--	GQ421454	--
<i>Eremopeza festiva</i>	KF951254*	*	*
<i>Eremopeza saussurei</i>	--	*	*
<i>Eremopeza bicoloripes</i>	*	*	*
<i>Filchnerella beicki</i>	KC831767	KC831767	--
<i>Filchnerella helanshanensis</i>	JX468877	JX468877	--
<i>Filchnerella kukunoris</i>	JF412674	GQ421452	--
<i>Filchnerella nigritibia</i>	--	GQ421440	--
<i>Filchnerella rubimargina</i>	JX468878	JX468878	--
<i>Filchnerella pamphagoides</i>	KF017586	--	--
<i>Filchnerella</i> sp.	--	GQ421436	--
<i>Filchnerella sunanensis</i>	--	DQ099594	--
<i>Filchnerella yongdengensis</i>	JF412676	GQ421455	--
<i>Glyphotmethis adaliae</i>	MG895901*	MG895909*	MG905233*
<i>Glyphotmethis dimorphus dimorphus</i>	MG895902*	MG895910*	MG905231*
<i>Glyphotmethis efe</i>		MG895911	*
<i>Glyphotmethis escherichi</i>	*	*	MG905232*
<i>Glyphotmethis holtzi pulchripes</i>	MG895903	MG895912	MG905234
<i>Mongolotmethis gobiensis</i>	--	GQ421439	--
<i>Prionotropis hystrix</i>	GU122525	KJ889844	AM259570
<i>Rhinotmethis hummeli</i>	JF412675	GQ421453	--
<i>Thrinchus schrenkii</i>	GU181288	GU181288	--
Haplotropidini			
<i>Haplotropis brunneriana</i>	KF951256*	GQ421435*	MG905235*
<i>Haplotropis neimongolensis</i>	KC140096	GQ421450	--

<i>Humphplotropis culaishanensis</i>	KF931338	KF931338	--
Porthetinae			
<i>Lobosceliana cinerascens</i>	*	*	*



Приложение 3



**Рисунок.** Филогенетическое древо, построенное на основе ITS2 последовательностей видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия и Байеса. Коэффициенты поддержки обозначены как SH-Like aLTR/UfBoot/Booster и Поддержка по Байесу. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства.

Приложение 4

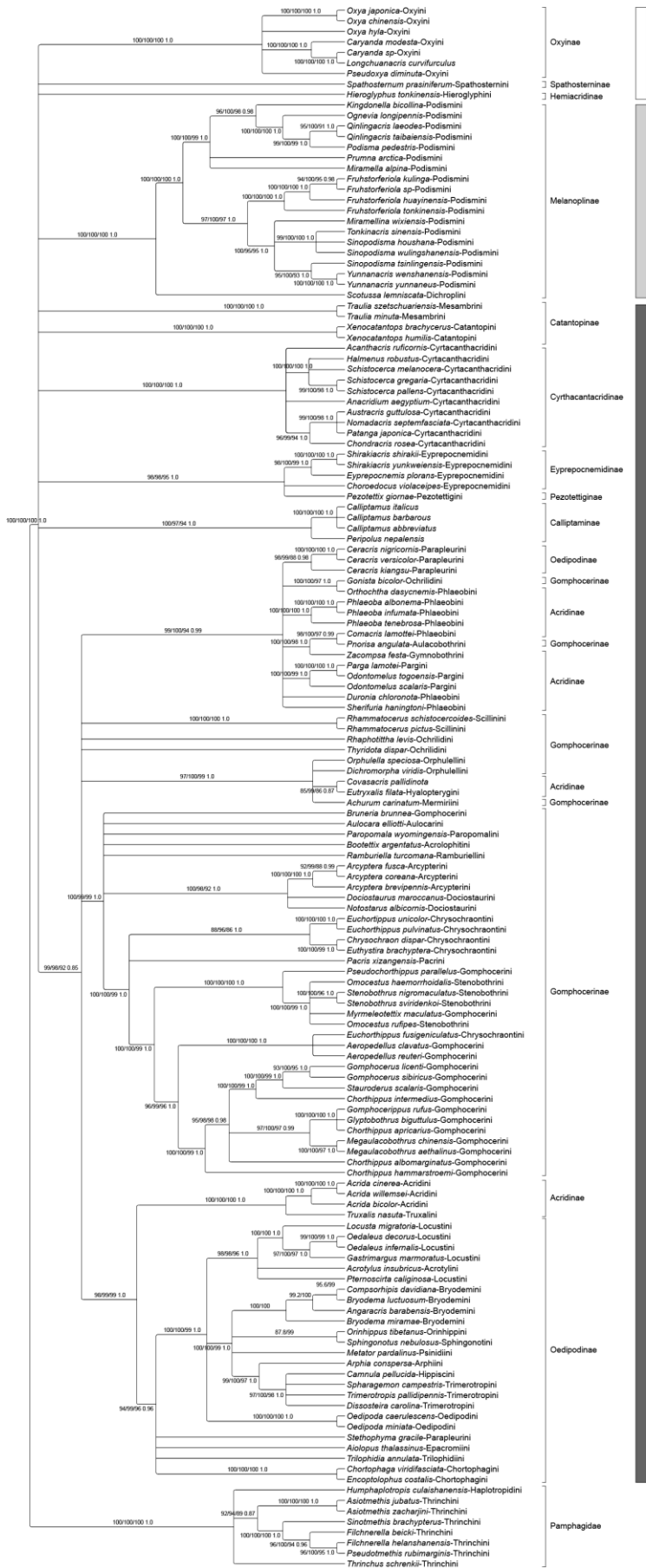
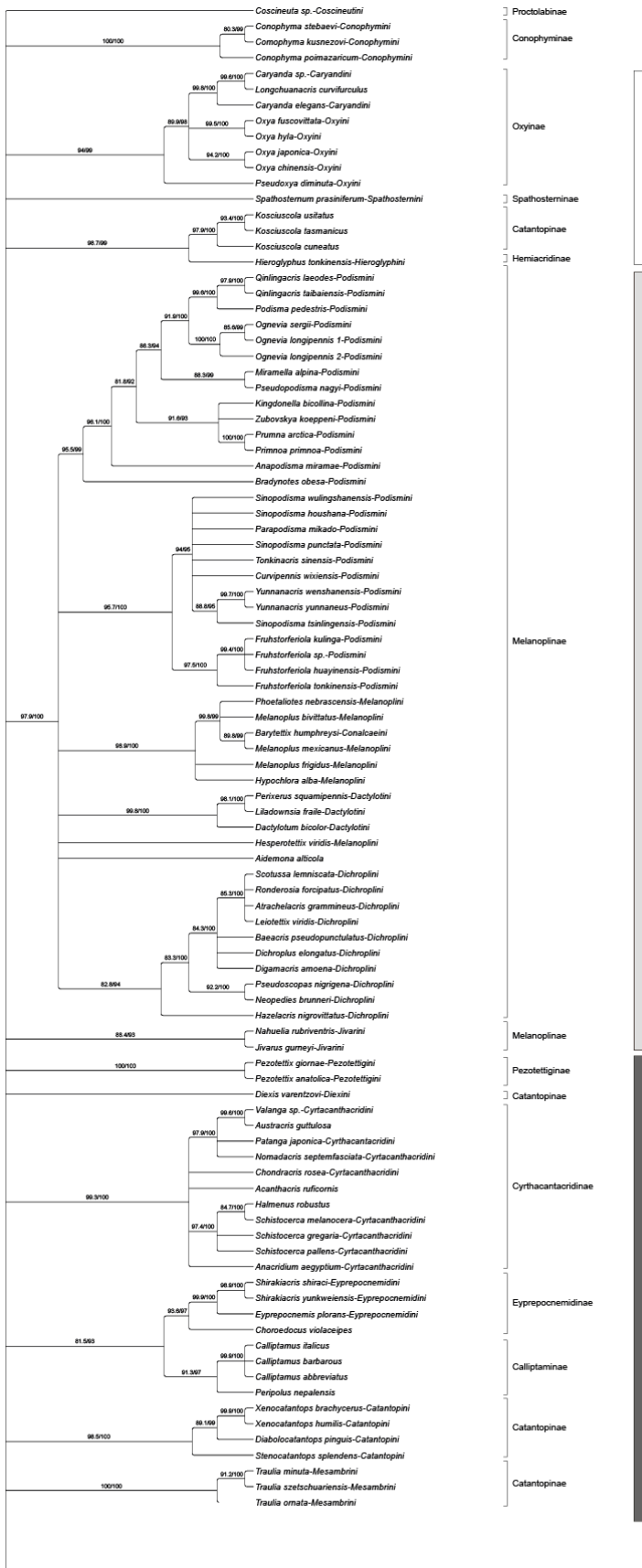


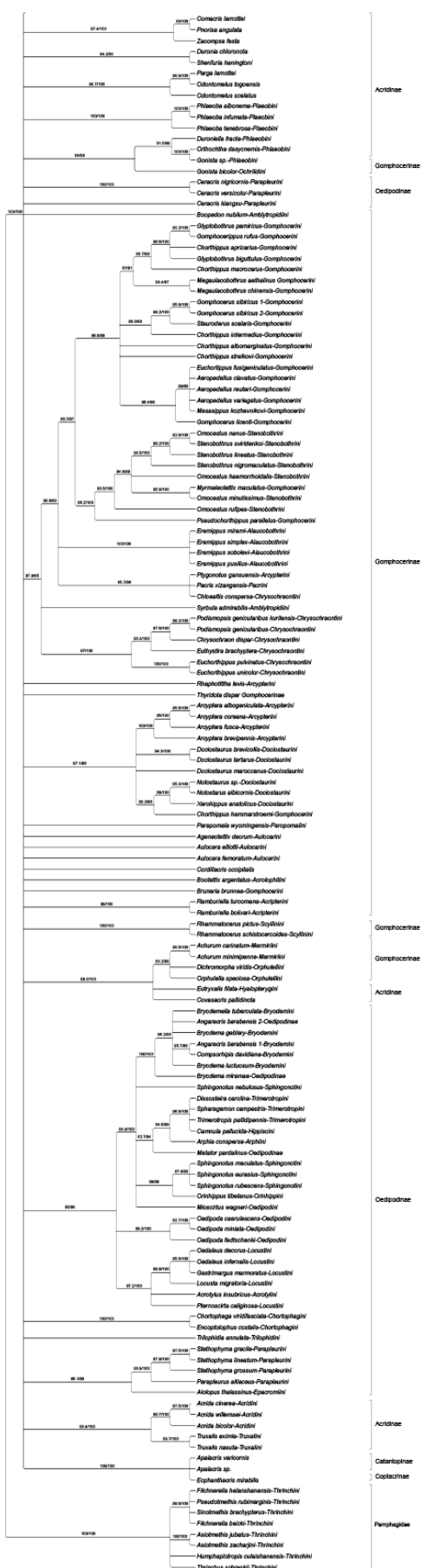
Рисунок. Филогенетическое древо, построенное на основе конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI, COII и Cytb видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия и Байеса. Коэффициенты поддержки обозначены как SH-Like aLTR/UfBoot/Booster и Поддержка по Байесу. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства.

Приложение 5



**Рисунок.** Первая часть филогенетического древа, построенного на основе конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI и COII видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия. Коэффициенты поддержки обозначены как SH-Like aLTR/UfBoot. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства.

### Приложение 6



**Рисунок.** Вторая часть филогенетического древа, построенного на основе конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI и COII видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия. Коэффициенты поддержки обозначены как SH-Like aLTR/UfBoot. Римскими цифрами обозначены основные группы, скобками обозначены подсемейства.